



TITLE:

# B-8 サル脊髄由来間質系幹細胞の培養とその移植によるラット脊髄損傷修復効果の検討

AUTHOR(S):

古川, 昭栄; 福光, 秀文; 宗宮, 仁美

---

CITATION:

古川, 昭栄 ...[et al]. B-8 サル脊髄由来間質系幹細胞の培養とその移植によるラット脊髄損傷修復効果の検討. 霊長類研究所年報 2014, 44: 85-85

ISSUE DATE:

2014-12-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/214218>

RIGHT:

は GABA-A 受容体が関わっていることが明らかになった。一方、淡蒼球外節刺激の場合は、抑制とそれに引き続く興奮が観察された。とくに高頻度の連続刺激では、興奮が目立つ傾向にあった。抑制には GABA-A 受容体が、興奮にはグルタミン酸受容体が関わっていることが明らかになった。このように淡蒼球内節と淡蒼球外節とでは、局所刺激した場合の反応が大きく異なることがわかった。このことは、両者において GABA 作動性入力とグルタミン酸作動性入力の比重の違いなど、神経解剖学的な差によると考えられた。また、このように反応が違うことを利用すれば、淡蒼球内節と淡蒼球外節とを容易に区別することが出来るようになり、ヒトの定位脳手術の際、ターゲットの同定に利用できる可能性が示唆された。

#### A-13 霊長類における時空間的な対象関係の理解に関する比較研究

村井千寿子（玉川大・脳研） 所内対応者：友永雅己

生物と物体の区別は、あらゆる動物において必須の基本的な知識のひとつである。しかし、ヒト以外の動物が生物・物体に関してどのような知識を持つかについては実験的研究が少ない。本研究では、ニホンザル・チンパンジーを対象にこれら対象の運動特性の理解について調べた。実験では、物的な運動として水平運動を、生物的な運動としてシャクトリ虫のような物体の伸縮を伴う運動を設定し、二次元の幾何学図形がそれぞれの運動で移動するアニメーションを作った。物体は他の物体からの接触がある場合のみ運動が起こり、対して、生物は他の物体からの働きかけがなくても自己推進的な運動が可能である。そこで、先の物的・生物の対象がこれらの運動ルールにしたがって移動する自然事象、またはルールに反して移動する違反事象を被験体に提示し、各事象に対する注視反応の違いから、被験体がそれぞれの対象においてその違反性に気づくかどうかを調べた。昨年度までの研究ですでに、チンパンジーにおいてその違反検出の可能性が示唆され、またニホンザルにおいても同様の可能性が示されている。本年度はこの結果を強めるために、ニホンザルにおいてより多数の被験体でのデータ収集を行い、分析を進めている。

#### A-14 二卵性ふたごチンパンジーの行動発達に関する比較認知発達研究

安藤寿康（慶應義塾大・文）、岸本健（聖心女子大・文）、多々良成紀、福守朗、山田信宏、小西克也（高知県立のいち動物公園） 所内対応者：友永雅己

高知県立のいち動物公園のチンパンジー・コミュニティでは、2009 年に 1 組の二卵性の雌雄の双子が誕生し、母親および母親以外のメンバーによる養育が現在まで継続している。母親以外のメンバーが実子以外の子を世話する様子が、通常のチンパンジー・コミュニティではほとんど見られないことから、われわれはかれらがなぜ、どのように双子を世話するのか、またそうしたかわりの中で双子は社会性をどのように発達させていくのかを検討するために、この双子とその母親、父親、非血縁者(すべて成体のメス) の 9 人をそれぞれ個体追跡法で観察しつづけている。本年度も観察を継続するとともに、得られたデータを解析し、11 月 9 日・10 日にのいち動物公園で開催された SAGA16 において発表した。

データの解析から、母親以外の成体メスの中には、通常、非血縁の子に対して行わないような運搬の世話行動を双子の一方にだけ行う者が複数いることが分かった。また、子の社会的認知能力と運動能力の発達に伴い双子間、ならびに双子と大人間の相互作用も複雑なものに変化していることが観察より見てとれた。双子たちの行動には個体差が明確になってきているが、現時点ではこれが性差に起因するのかどうか不明である。

#### A-15 成体脳神経新生の in vivo 動態解析技術の創出

植木孝俊、尾内康臣、間賀田泰寛、小川美香子（浜松医科大）、岡戸晴生（東京都医学総合研究所）

所内対応者：高田昌彦

哺乳動物成体脳神経新生の動態、その分子基盤の研究は、これまで専らマウス等のげっ歯類で行われ、ヒト、マカクザル等の高等霊長類での成体脳神経新生の生理的役割、及び、その障害が精神神経疾患の病態生理に与える仕組みは未解明であった。そこで、本研究では、マカクザル(ニホンザル、アカゲザル)成体脳内の神経幹細胞を PET により in vivo で画像化し、その動態と病態脳での神経新生障害を、リアルタイムで定量的に解析することをねらいとした。

ここでは、初めに神経幹細胞をポジットロン放出核種で特異的に標識するため、神経幹細胞選択的に中性アミノ酸トランスポーターと、その共役因子を発現するレンチウイルスによる遺伝子発現系を構築した。即ち、nestin プロモーター/エンハンサーをカニクイザル BAC ライブラリーからクローニングし、それにより P2A 配列を介したトランスポーター並びに共役因子遺伝子を発現するウィルスベクターから、ウィルス粒子を調製した。次に、ヒト神経幹細胞株にウィルスを感染し、nestin プロモーター/エンハンサーの神経幹細胞特異的活性を確認するとともに、成獣ラット海馬へのウィルス感染により、in vivo で神経幹細胞特異的な EGFP 発現を誘導した。

## (2) 一般個人研究

### B-1 マカクザルにおける出産様式に関する形態学的研究

森本直記（京都大・理）、Christoph Zollikofer, Marcia Ponce de León（スイス・チューリッヒ大・人類）

所内対応者：西村剛

ヒトにおける出産様式の進化に関する研究は、脳機能・歩行様式・生活史に関わる多面的な課題である。しかし、出産進化のメカニズムにおいて鍵となる新生児と骨盤の化石記録が乏しく、直接的な検証が極めて困難である。そのため、現生の霊長類をモデルとした研究が不可欠である。本共同研究では、マカク(アカゲザル)をモデルとし、出産メカニズムに関する生体データを取得・解析することを目的とした。2013 年度は、妊娠・出産期の母親 5 個体(胎児 5 個体)を CT 撮像し、母親と胎児の 3 次元データを取得した。時間的制約等により、当初目標としていた母子 10 組のデータを期間内に

得ることはできなかったため、最終目標である母子の形態的な共変異関係の統計的な解析には至らなかった。しかし、マカク母子の詳細な3次元形態データは他に類をみない貴重なものであり、今後の研究発展の基礎となるデータは得られた。さらに、3組に関しては同一個体における妊娠中期・後期の形態データも取得できた。今後、さらにデータを充実させ、コンピューター内での出産シミュレーションや、形態的な共変異関係の解析へと研究を発展させていく計画である。

## B-2 霊長類における旨味受容体 T1R1/T1R3 のアミノ酸応答性の評価

三坂巧, 石丸喜朗, 戸田安香 (東大院・農生科) 所内対応者: 今井啓雄

旨味受容体 T1R1/T1R3 はヒトとマウスで応答するアミノ酸の種類が異なる。本研究では、味覚受容体発現細胞を用いた味の評価技術を利用し、様々な動物種の旨味受容体のアミノ酸応答性を調査し、旨味受容体のアミノ酸配列の違いとアミノ酸応答性の違いを比較検討することを目的としている。

昨年度構築したマントヒヒ T1R1 およびリスザル T1R1 発現プラスミドを用いて、細胞評価系によりアミノ酸応答性の評価を行った。その結果、マントヒヒ T1R1 がヒト T1R1 と同様に L-Glu に対し高感度である一方で、リスザル T1R1 はマウス T1R1 同様、酸性アミノ酸よりも L-Ala など他のアミノ酸に対し高感度であることが明らかとなった。

また、マカク属サルにおいて種間・地域間で TAS1R1 遺伝子の多型が認められ、この多型によりアミノ酸感受性に変化が生じることが示唆された。そこで、L-Glu に対する閾値が異なることが期待されたアカゲザルインド群と中国群を用いて、行動実験を実施した。しかし、今回の試験では旨味という新規の味に対し嗜好ではなく忌避を示す個体がいるなど、予定通りの評価が行えなかった。今後、L-Glu の味に対する馴化期間を十分に設けることで閾値の正確な評価が可能になるのではないかと考えている。

## B-3 霊長類の嗅覚・フェロモン受容体の多様性と進化

東原和成 (東大・院・農学生命科学) 所内対応者: 今井啓雄

感覚受容体には生物が環境へ適応しながら進化してきた歴史が刻まれている。なかでも嗅覚・フェロモン感覚の受容体は、摂食・危険忌避・繁殖行動と密接に関連し、生物群としての社会性にも深くかかわっている。

ヒトを含む霊長類と、それ以外の哺乳類のゲノムデータから、進化学的に特殊な嗅覚受容体遺伝子を同定した。これらは哺乳類にとって特別な役割があると考えられる。これまでに RT-PCR による発現解析で、これらの嗅覚受容体遺伝子が、様々な臓器に発現していることを確認した。この知見をもとに、嗅覚受容体タンパク質をアフリカツメガエルの卵母細胞を用いたアッセイ系で再構成し、化学物質に対する応答を測定中である。また、嗅覚受容体遺伝子の発現比較解析を行うために、大規模シーケンサーによる RNA シーケンシングを進めている。これまでにアカゲザルのライブラリーからシーケンスを行っている。嗅覚受容体およびその関連遺伝子の発現レベルを定量的に比較解析することで、嗅覚受容体遺伝子の発現パターンが得られ、時間軸を加えた嗅覚受容体レパートリーの解明につながると考える。

## B-4 サル脊髄損傷モデルを用いた軸索再生阻害因子とその抗体による神経回路修復に関する研究

山下俊英, 中川浩 (大阪大・院・医), Naig Chenais (ローザンヌ連邦工科大) 所内対応者: 高田昌彦

これまで、霊長類モデルを用いて、軸索再生阻害因子と脊髄損傷後の神経回路網再編成による機能再建に焦点をあて研究を行ってきた。その結果、阻害因子のひとつである RGM が脊髄損傷後損傷周囲部にその発現量を増加させることを見出した。さらに、その責任細胞のひとつにミクログリアを同定することができた。現在は、その RGM の作用を阻害する薬物を用いて脊髄損傷後の機能回復過程および神経回路網形成の有無を検証している。コントロール群(薬物投与なし)に関しては、自然経過にともない緩徐ではあるが、運動機能の回復がみられた。大脳皮質運動野と脊髄を直接連絡する神経路である皮質脊髄路を順行性トレーサーでラベルした結果では、自然回復に伴って脊髄損傷部を越えた神経軸索枝の一部が、直接指の筋肉を制御する運動ニューロンへ結合していることが分かった。これは、成熟した中枢神経においても神経可塑性を有する可能性を示唆する知見である。

## B-5 ニホンザルにおける歯の組織構造と成長

加藤彰子 (愛知学院大・歯・口腔解剖), Tanya Smith (Harvard Univ. Human Evolutionary Biology・Dental Hard Tissue Lab) 所内対応者: 平崎鋭矢

これまでに我々は、ニホンザルを含む6種類のマカクの歯冠エナメル質の厚みについて X 線 CT 画像解析により調査をおこなってきた。その結果、平均的エナメル質の厚み(AET)と相対的エナメル質の厚み(RET)は種間で有意な差が認められ、特にカニクイザルとブタオザルでは AET が低く、ニホンザルとバーバリーマカクでは AET が高い結果となった。上下顎ともに第一大臼歯の AET は各マカクの生息範囲を代表する緯度との間に有意な正の相関関係が見られた(p<0.001)。RET の比較では AET で見られた結果とは異なる種間差が認められた。つまり、RET はベニガオザルで相対的に小さく、カニクイザルで相対的に大きな厚みとなった。ニホンザルの RET は全6種の中では最も大きな厚みが認められた。これらの結果と生息環境および食性との関係について先行研究を基に考察し、AJPA(American Journal of Physical Anthropology)に現在投稿中である。今後は、大臼歯の歯冠エナメル質に認められる成長線を用いて歯の形成速度と食性との関係を調査していく予定である。

## B-6 低酸素化あるいは再酸素化がニホンザル血管機能に及ぼす影響

田和正志 (滋賀医大・薬理学), 岡村富夫 (滋賀医大・薬理学) 所内対応者: 大石高生

cGMP 産生酵素である可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)には、一酸化窒素(NO)によって活性化される還元型(reduced

sGC)とされない酸化型(oxidized sGC)、ヘム欠失型(heme-free sGC)の3種類が存在する。近年これらのsGCを標的とする種々の薬物が開発されており、sGC stimulatorはreduced sGCを、sGC activatorはoxidizedおよびheme-free sGCをそれぞれNO非依存的に活性化する。したがって、これらの両薬物はsGCのレドックス状態を調べるツールとしても活用されている。

前年度までの研究で、ニホンザル冠動脈を低酸素あるいは再酸素に曝露すると、sGC stimulatorによる弛緩反応は減弱し、sGC activatorによる反応は増強することを明らかにしてきた。今年度は、低酸素あるいは再酸素曝露下でのsGC stimulatorおよびsGC activatorによるcGMP産生を摘出ニホンザル冠動脈において確認した。その結果、血管反応性と相関して、低酸素あるいは再酸素曝露によりsGC stimulatorによるcGMP産生は減少し、sGC activatorによる産生は増大した。以上の結果は、低酸素あるいは再酸素に曝露された冠動脈では、発現sGCのフォームがreduced sGCからoxidized/heme-free sGCへと移行していることを示している。

#### **B-7 Molecular characterization of HERV-R family in primates**

Heui-Soo-Kim, Ja-Rang-Lee, Jung-Woo-Eo (Pusan National University) 所内対応者：今井啓雄

Endogenous retroviruses (ERVs), which are footprints of ancient germ line infections, inserted into the genome early in primate evolution. Human endogenous retroviruses (HERVs) occupy around 8% of the human genome. Although most HERV genes are defective with large deletions, stop codons, and frameshifts in the open reading frames (ORFs), some of full-length sequences containing long ORFs are expressed in several tissues and cancers. Several envelope glycoproteins, encoded by env genes, have retained some characters of their ancestral infectious viruses with essential physiological consequences for the organs where they are expressed. Previous studies have shown Env expression of HERVs at mRNA level rather than the more difficult detection of protein expression in cells and tissues. Whether Env is functionally conserved in primate species is not well explored. To better understand possible role of Env in primates, here, we examined the expression of four HERVs (HERV-R, -K, -W, and -FRD) Env proteins in various tissues of rhesus monkey and common marmosets. The HERV Env proteins were observed moderate to high levels in each tissue, showing tissue-specific or species-specific expression patterns. These data suggest a biologically important role for the retroviral proteins in a variety of the healthy tissues of rhesus monkey and common marmosets.

#### **B-8 サル脊髄由来間質系幹細胞の培養とその移植によるラット脊髄損傷修復効果の検討**

古川昭栄, 福光秀文, 宗宮仁美 (岐阜薬大・分子生物) 所内対応者：大石高生

ラット脊髄損傷部位にFGF-2を注入すると脊髄に固有の間葉系細胞(FGF-2-誘導性フィブロネクチン陽性細胞:FIF)が増殖し運動機能が改善される。又、培養下で増殖させたFIF細胞の移植によっても同等の効果が認められる。そこで、もしサルの脊髄にFIF様細胞が存在するならばそれを培養し、ラット脊髄損傷モデルに移植して運動機能に及ぼす効果を評価した。ラット脊髄からのFIF細胞培養法に準じた方法で得たサルの細胞は、ラットFIF細胞と比較すると、1)形態では区別できない、2)やや増殖性が低い、3)FGF-2に应答して増殖する、など、ラットFIFに類似する細胞を得ることができた。そこで、培養下で増やしたサルFIF様細胞を、脊髄損傷(全切断)ラットの損傷部位に移植(免疫抑制剤も投与)し、7週間にわたり運動機能を評価した。移植群では5匹中3匹に運動機能の改善が認められたが、非移植群でも5匹中1匹に改善が認められたことから、両群間の統計学的な有意差は得られなかった。結論として、ラットFIF細胞ほど活性は顕著ではないが、サルの脊髄にもFGF-2に应答して増殖し、脊髄損傷修復機能をもつラットFIF細胞様の細胞が存在するものと推定された。

#### **B-9 尾の機能に着目した旧世界ザル仙骨の形態学的分析**

東島沙弥佳 (京都大・院・理) 所内対応者：濱田穰

霊長類における顕著な尾の形態変異は系統進化と適応に関わる重要な指標である。現生種における仙尾部骨格形態変異の多様性とその要因解明は、尾の形態・機能の解明に有用であり、霊長類の進化過程復元に必要不可欠な知見を提供する。前回の共同利用研究において筆者は、尾長の異なる狭鼻猿種において三次元的幾何学的形態分析を実施、仙骨正中矢状面形態が尾長をよく反映することを明らかにした。しかし同時に、マカク類とヒヒ類で形態が明瞭に異なるなど尾長以外の要因も仙骨形態変異に影響を及ぼす可能性が示された。そこで本研究では、計測範囲を、正中矢状面のみでなく仙骨全体へと広げ、仙骨形態と尾の機能、形態との関連を広く分析した。霊長類研究所所蔵の狭鼻猿種、原猿種成熟個体(歯列完全萌出以後)の仙骨右側に47点のランドマークを設け座標を三次元計測し、得た座標を一般化プロクラステス法により基準化後、CVA(正準変量分析)を実施した。結果、広く旧世界ザル類において仙骨尾側(最終仙椎)形態が尾長を強く反映すること、また、仙骨頭側の形態は、系統の違いや地上環境利用頻度など尾長以外の要因を反映して変異することが明らかになった。

#### **B-10 チンパンジー頭蓋の比較解剖学—乳様突起部の形態を中心に—**

長岡朋人 (聖マリアンナ医科大・医), 矢野航 (朝日大・歯) 所内対応者：西村剛

前年度の共同利用研究によって、胸鎖乳突筋はヒトでは1つであるがチンパンジーでは4つに分かれており、M.cleidooccipital, M.sternooccipital, M.cleidomastoid, M.sternomastoidにより構成されること、ヒトには欠くM.omocervicalisが存在することが明らかになった。本研究では、チンパンジー頭蓋を用いて、乳様突起部の筋の起始・停止・支配神経を詳細に記載し、乳様突起部の筋の神経支配の解明を進めた。

骨形態では若齢個体では平板だった乳様突起だが、年齢が進むと形態が凸状に変化し、位置も外耳道を覆うように前下方に拡がっていた。筋の配置では顎二腹筋後腹に注目したところ、観察した2体とも乳様突起先端に起始しており、乳様突起形態の発達変化と最も相関しているのは同筋の配置であった。胸鎖乳突筋の各腹と頭板状筋は乳様突起の外側部に起

始しており、茎突舌骨筋頭長筋、上頭斜筋は後方に起始していた。乳様突起に付着するのは第二以降の鰓弓、あるいは体節由来の筋群であり、第一鰓孔である外耳道より後ろに位置する。その発生学的制約下で前頸部の発達変化や系統進化に対応する為の筋付着部の異所的変化として、乳様突起の形態を捉えうる可能性が示唆された。

乳様突起部の支配神経を調査したところ、副神経は、*M.cleidomastoid* と *M.cleidooccipital* の間から出て、*M.omocervicalis* の後縁に沿って下降し、複数の分枝はいずれも僧帽筋の深層に分布した。次に頸神経は、*M.cleidooccipital* の後方から出て、*M.cleidomastoid/occipital* と *M.sternomastoid/occipital* の表層を上前方に向かい前頸部の皮膚に分布する頸横神経、胸部から肩の広い範囲の皮膚に分布する鎖骨上神経、そして *M.cleidomastoid* の深層に入り込んで分布する枝が認められた。すなわち、*M.cleidooccipital* の支配神経は副神経と頸神経であること、*M.omocervicalis* の支配神経は副神経もしくは頸神経であることが示唆された。

#### B-11 DNA analysis of wild rhesus macaques in Southern China

Peng Zhang,, Yang Liu, Xunxiang Xia (Sun Yat-sen University) 所内対応者：今井啓雄

Abstract Knowledge of intraspecific variation is important to test the evolutionary basis of covariation in primate social systems, yet few reports have focused on it, even in the best-studied species of the *Macaca* genus. We conducted a comparative study of the dominance styles among three provisioned, free-ranging groups of Japanese macaques at Shodoshima Island, Takasakyama Mountain and Shiga Heights, and collected standard data on aggressive and affiliative behavior during a period of 5 years. Our data in the Takasakyama and Shiga groups support previous studies showing that Japanese macaques typically have despotic social relations; nevertheless, our data in the Shodoshima group are inconsistent with the norm. The social traits of Shodoshima monkeys suggested that: (1) their dominance style is neither despotic nor tolerant but is intermediate between the two traits; (2) some measures of dominance style, e.g., frequency and duration of social interactions, covary as a set of tolerant traits in Shodoshima monkeys. This study suggests broad intraspecific variation of dominance style in Japanese macaques as can be seen in some other primate species.

#### B-12 哺乳類の肩甲骨の材料力学的特徴および肩帯周辺筋の移動運動との関係

和田直己（山口大・共同獣医）、藤田志歩（鹿児島大） 所内対応者：西村剛

2012, 2013 年で実施した肩甲骨と移動運動に関する研究により肩甲骨の形態と系統、生息域、そして移動運動との関係を示すことができた。

ゾウ、サイ、などの大型動物を除いて、死体のCT撮影により3次元構築された肩甲骨において外形、断面の計測を行った。調査した動物種は、霊長類 42 種、食肉類 38 種、有蹄類 41 種、げっ歯類、28 種、有袋類、21 種、その他 39 種、肩甲骨数は 430 である。

計測値項目は 21 である。計測実測値は、肩峰、鈎状突起、鳥口突起を除いてすべての動物種で体重に強い相関を示した。しかし、体重と計測値の関係は動物種によって異なった。

形状、つまり比については動物種との相関がみられたが、そのばらつきは実測値に比べて大であった。生息地を反映するロコモーションとの関係が確認された。

#### B-13 音声によるニホンザル個体群のモニタリング手法の実用試験

江成広斗（山形大・農）、江成はるか（宇都宮大・農） 所内対応者：半谷吾郎

ニホンザルの個体群管理に資することを目的に、音声記録法を利用した本種の個体群モニタリング手法の開発を一昨年度から着手している。当該年度において、その実用試験を白神山地北東部において 6 月と 9 月の 2 回実施した。それぞれの季節に、7 か所のモニタリングサイトを用意し、音声記録装置(*Song Meter SM2+*)1 台と、精度検証を目的としたセンサーカメラ(*Reconyx HC600*)3 台をそれぞれ設置した。その結果、ニホンザルの群れの検出頻度は、両手法間で同等、もしくは音声記録法が上回るケースも確認された。6 月の実験では、エゾハルゼミによる環境雑音(約 3,000Hz)による検出力の低下が当初懸念されたものの、周波数が異なるニホンザルのクーコール(1,000Hz 以下)であれば検出は可能であった。音声記録法で得られたニホンザルの発声音は、予め設定した音声判別因子(*recognizer*)によって自動検出できるため、調査者の目によってニホンザルの撮影画像を特定する必要のあるセンサーカメラに比べて、調査者間バイアスを低減させることが可能であると考えられる。ただし、音声判別因子の精度は季節や周辺の環境条件によって変動することも考えられ、今後も異なる条件で実用化に向けた試験を繰り返す必要がある。

#### B-14 霊長類の光感覚システムに関わるタンパク質の解析

小島大輔、森卓、鳥居雅樹（東京大・院理・生物化学） 所内対応者：今井啓雄

脊椎動物において、視物質とは似て非なる光受容蛋白質(非視覚型オプシン)が数多く同定されている。私共は最近、非視覚型オプシンの一つ *OPN5* がマウスの網膜高次ニューロンや網膜外組織(脳や外耳)に発現すること、さらにマウスやヒトの *OPN5* が UV 感受性の光受容蛋白質であることを見出した [Kojima et al. (2011) *PLoS ONE*, 6, e26388]。このことから、従来 UV 光受容能がないとされていた霊長類にも、UV 感受性の光シグナル経路が存在することが示唆された。そこで本研究では、*OPN5* を介した光受容が霊長類においてどのような生理的役割を担うのかを推定するため、霊長類における *OPN5* の発現パターンを解析している。本年度は、主としてニホンザルの各組織(眼球・外耳など)より調製した cDNA 試料を用いて、*OPN5* 遺伝子発現の詳細な解析を行ったところ、哺乳類以外の *OPN5* 遺伝子には見られないエクソンが存在することが明らかになった。ニホンザルの場合、このエクソンを含む *OPN5* 転写産物は、これまで同定されていた通常型 *OPN5* 転写産物よりも発現量が高いことがわかった。今後は、この新たな *OPN5* 転写産物の機能や存在意義にも着目して研究を進めたい。

## B-15 現生ニホンザルにおける距骨サイズの変異と体重との関係

鏑本武久（林原自然科学博） 所内対応者：高井正成

距骨サイズの成長過程における種内変異を明らかにするために、現生のニホンザルの幼獣個体を対象に、距骨サイズの変異および体重との関係を調べた。ニホンザルの幼獣 244 個体(オス 142;メス 102)の距骨の 4 カ所を計測し、個々の個体の体重データを台帳より取得した。自然対数変換したデータを用いて、体重と距骨の各計測値との単変量アロメトリーを調べたところ、不偏長軸についての雌雄差はほとんどなかった。したがって、先行研究において成獣における距骨サイズに雌雄差があったが、この成獣における雌雄差は、性の違いというよりもむしろ体重の違いに起因すると考えられる。体重に対する距骨サイズは、滑車の幅は等成長(傾き $\sim 1/3$ )で、長さとは過成長(傾き $> 1/3$ )、距骨頸部の長さは劣成長(傾き $< 1/3$ )だった。これは、距骨の滑車の幅を使えば、先行研究で求めた成獣における距骨サイズから体重を求める式がニホンザルの幼獣にも適用できることを示す。また、距骨の計測値について多変量アロメトリー解析をおこなった。滑車の幅はやや劣成長、長さは過成長、幅はやや過成長、頸部の長さは劣成長となった。つまり、成長(距骨が大きくなる)とともに、距骨の滑車の幅と頸部の長さは相対的に小さくなる。

## B-16 霊長類の各種組織の加齢変化

東超（奈良県医大・医・解剖学） 所内対応者：大石高生

今回の研究では消化器系の内臓のカルシウム、リン、マグネシウム、硫黄、鉄、亜鉛が加齢に伴ってどのように変化するかを明らかにするため、サル（サルの肝臓）の元素含量の加齢変化を調べた。用いたサルは 28 頭、年齢は新生児から 31 歳である。サルより肝臓を 100g 程度採取し、水洗後乾燥して、硝酸と過塩素酸を加えて、加熱して灰化し、元素含量を高周波プラズマ発光分析装置(ICPS-7510、島津製)で測定し、次のような結果が得られた。

- ①サルの肝臓においてはカルシウム、リン、マグネシウム、硫黄、鉄、亜鉛含量は加齢とともに減少傾向にあった。特にマグネシウム、リン、硫黄、亜鉛含量が有意な減少が認められた( $P<0.05$ )。
- ②サルの肝臓のカルシウム含量はすべて 2mg/g 以下で、石灰化しにくい内臓であることが分かった。
- ③サルの肝臓においてはカルシウム、リン、マグネシウム含量の間に有意な相関が認められ、カルシウム、リン、マグネシウムが一定の比率でサルの肝臓に蓄積されることを示している。

## B-17 腱および骨組織の効率的再生に向けた基礎研究

佐藤毅、榎木祐一郎（埼玉医科大）、小宮山雄介（東京大） 所内対応者：高田昌彦

【目的】咀嚼筋腱・腱膜過形成症の開口障害は腱組織の過形成に起因しており、われわれは本疾患患者の腱組織において、分泌タンパク質である  $\beta$ -crystallin A4 (CRYBA4) が特異的に上昇していることを報告している(Nakamoto A et al, 2013)。また、本疾患の男女比は 1:2.5 と女性に多い(有家ら 2009)。今回、腱細胞における CRYBA4 の機能およびエストロゲンの作用について検討を行った。

【方法】マウス眼球 cDNA から PCR で CRYBA4 を増幅し発現ベクター pcDNA3 ヘクローニングを行った。腱細胞株として TT-D6 細胞を用いた。TT-D6 細胞に CRYBA4 を過剰発現させ、腱分化マーカーの発現を検討した。さらに、エストロゲンとして 17 $\beta$ -estoradiol を用い、TT-D6 細胞に作用させて腱分化マーカーの発現をリアルタイム PCR で検討した。

【結果】TT-D6 細胞に CRYBA4 を過剰発現させることで腱分化の初期マーカーである scleraxis の遺伝子発現が低下した。17 $\beta$ -estoradiol 処理により TT-D6 細胞において collagen 6A1 の遺伝子発現が上昇した。

【結論】咀嚼筋腱・腱膜過形成症においては、CRYBA4 の発現が高いことで、腱細胞の分化初期を抑制するが、エストロゲンの作用で腱細胞のコラーゲン線維の増加を促進させる可能性が示唆された。

## B-18 網膜神経細胞のサブタイプ形成を担う分子群の霊長類における発現パターンの解析

大西暁士（理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

所内対応者：今井啓雄

ヒトを含む多くの霊長類の多くは赤・緑・青色感受性の錐体視細胞に起因する 3 色性色覚を持つが、これら錐体視細胞のサブタイプを決定するための分子機構は不明な点が多い。これまでにマウス網膜を用いた機能ゲノム学的解析により、転写制御因子 Pias3 が青・緑錐体視細胞のサブタイプ決定に重要な役割を担う事を報告した。そこで、霊長類網膜において PIAS3 と関連遺伝子についての発現パターンを免疫組織化学的手法により解析した。

試料には成体マーモセットの眼球を用い、マウス網膜で抗原特異性を確認した抗体で蛍光組織染色を行った。この結果、成体マーモセット網膜において 1 型レチノアルデヒド脱水素酵素が中心窩部分で高い発現を示す事が分かった。この遺伝子はマウス網膜では緑錐体の局在する領域で高い発現を示す。また、同遺伝子の発現量の変化と青および緑錐体オプシンの発現パターンの変化に相関性が見られることから、霊長類の中心窩部分では赤緑錐体のオプシンのサブタイプの発現制御に関与する事が示唆される。今後、マウスおよびマーモセットにて同遺伝子の GOF/LOF 解析を行い、表現型を評価する予定である。

## B-19 霊長類における甘味受容体の膜移行機序の解析

日下部裕子（農研機構・食品総合研究所） 所内対応者：今井啓雄

甘味の受容は、進化に伴って変化することが知られており、特に一部の人工甘味料の感受性は霊長類を境に進化に伴って獲得されたことが示唆されている。また、我々は、齧歯類とヒトでは甘味受容体を構成する分子である T1r3 の膜移行性が異なることを見出し（図）、甘味受容体は甘味物質の受容だけではなく、構造機能特性が進化によって変化する

ると考えられる。そこで、人工甘味料の感受性が種によって異なる霊長類の T1r3 の膜移行性を明らかにすることで、進化による味の感受性の変化と味覚受容体の膜移行機序の変化の関係を理解することを目的とした研究を行った。現在、チンパンジー、アカゲザル、ニホンザル、マーモセットの T1r3 の膜移行を評価するためにそれぞれの N 末端にタグを付加した変異体を作製中であり、一部は膜移行を評価するために培養細胞へ導入を行っている。今後、膜表面に移行した受容体のタグについて抗体染色を行うことで、膜移行を評価する予定である。

#### B-20 野生ニホンザル絶滅危惧孤立個体群の MHC 遺伝子の解析

森光由樹（兵庫県立大・自然・環境研/森林動物研究センター） 所内対応雄者：川本芳

兵庫県に生息しているニホンザルの地域個体群は、分布から孤立しており遺伝的多様性の消失及び絶滅が危惧されている。地域個体群の保全にむけて、早急な遺伝的多様性の調査が必要である。そこで、報告者は、兵庫県香美町小代に生息している孤立地域個体群、美方 A 群 6 頭を学術捕獲し、採取した血液サンプルを用いて MHC クラス II 領域 DRB を分析した。血液サンプルを、RNA Later を用いて処理後、市販の抽出キットを用いて RNA を抽出した。抽出した RNA を鋳型に RT-PCR を行い、pGEM-T Easy Vector System を用いて産物のクローニングを行った。目的の領域をコロニー PCR により増幅し、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。現在、塩基配列の解析作業を進めている。来年度は、さらに分析数を増やすこと、また、島嶼に生息している、淡路島群からも、サンプルを採取し同法にて分析を行い、地域個体群の MHC の特徴を整理する予定である。

#### B-21 ヒト上科 (Hominoidea) における蝸牛の比較解剖学的研究

澤野啓一（神奈川歯科大） 所内対応者：濱田 穰

蝸牛 Cochlea は聴覚器の中心的部分であり、それは、ヒトでは頭蓋底の骨質の最も厚い部分に埋もれて存在する。そしてそこには、隣接して太い頸動脈管(その中には内頸動脈)が強く屈曲して走行するという空間配置と成っている。こうした関係性について、great apes やそれ以外の Anthropoidea(Simiiiformes)、更には Carnivora、Perissodactyla、及び Artiodactyla の各動物と比較して検索検討してみた。蝸牛が相対的に最も厚い骨質に包まれるのは great apes (Gorilla, Pan, Pongo) である。great apes の Cochlea の存在様式は、三者間では類似度が大きい。これらの動物では、頸動脈管は蝸牛に隣接しつつ、Homo よりも遥かに長距離を屈曲蛇行して走行する。ヒト上科 (Hominoidea)を除く Anthropoidea(Simiiiformes、ここでは Haplorhini 直鼻類ではない)では、蝸牛を包む骨質は、相対的に great apes よりも薄く、頸動脈管は蝸牛に隣接して走行するが、その走行は屈曲蛇行しつつも、great apes よりも遥かに短い距離であった。他方、Carnivora の Canis, Vulpes, Nyctereutes, Ursus, Selenarctos などでは、蝸牛を包む骨質は厚くは無く、近隣には大きな空洞を持つ Bulla tympani が存在する。地上の振動音を増幅して蝸牛に伝えるには、蝸牛が厚い骨質に包まれるよりも、大きな Bulla tympani の存在の方が効果的なのであろう。Artiodactyla と Perissodactyla では、Bulla tympani の発達の程度は様々であるが、蝸牛を包む骨質は厚くは無く、頸動脈が頭蓋底を貫く部分は管状ではない。

#### B-22 伊豆大島に生息するタイワンザルの遺伝的多様性に関する研究

佐伯真美（梶野動物保護管理事務所） 所内対応者：川本芳

伊豆大島には、1939～1945 年に動物園から逸走し野生化したタイワンザルが生息する。1980 年代に東海岸域だけだった分布は、現在島のほぼ全域に拡大している。今年度計画ではこれまでの研究により得たデータの解析を計画したが、主要組織適合遺伝子複合体(MHC)近傍のマイクロサテライト DNA の多型性に関する分析に切り替えた。これは、MHC に連鎖する DNA 標識を加えて外来種個体群の遺伝的特徴を検討するためである。

MHC 領域にあるマイクロサテライト DNA の 5 座位(D6S2691,D6S2704,D6S2793,D6S2970,MICA)につき伊豆大島で採取した血液あるいは組織から調製した 39 検体を分析した。蛍光ラベルした各座位の PCR 産物を 3130xl Genetic Analyzer によりフラグメント解析し、各検体の遺伝子型を判定した。対照のため、同様の分析を青森県野辺地(5 検体)、和歌山県大池(4 検体)についても行い、検出できる対立遺伝子の相違にも注目した。

検査したいずれの座位でも伊豆大島では多型が認められた。対立遺伝子数は 2(D6S2793)～6(D6S2691)で、遺伝子タイプには対照地域と一部に違いがあった。ヘテロ接合率では、観察値が 0.167～0.846、期待値が 0.401～0.776 であった(下図を参照)。D6S2793 ではヘテロ接合体の観察頻度が期待頻度より有意に小さく、null allele が予想された。他の座位では Hardy-Weinberg 平衡からの有意な逸脱は認められなかった。

#### B-23 新世界ザル苦味受容体 TAS2R に対するリガンド感受性多様性の検証

尾頭雅大、河村正二（東大・新領域） 所内対応者：今井啓雄

霊長類の進化において色覚と化学物質感受能の発達はトレードオフの関係にあるとされてきたが検証が待たれている。新世界ザル類は色覚と食性に大きな多様性があることが知られている。そこでトレードオフ仮説を検証し、要因として食性がどのように関係するかを検討する上で新世界ザルに注目した。本課題ではその第一歩として化学センサーのうち苦味受容体の TAS2R1 と TAS2R4 のリガンドに対する反応強度(最大応答強度:  $(\Delta F/F_0)_{max}$ )と感度(半数効果濃度: EC50)をヘテロ培養細胞系カルシウムアッセイを用いて次の種間で比較した: マントホエザル(恒常的 3 色型色覚、葉食)、ノドジロオマキザル(L/M オプシン 3 アレル型 2-3 色多型色覚、雑食)、コモンマーモセット(3 アレル型 2-3 色多型色覚、昆虫・樹液食)、チュウバイクモザル(2 アレル型 2-3 色多型色覚、果実食)、ヨザル(夜行性完全色盲、果実食)。TAS2R1 の樟脳に対する感度は夜行性のヨザルが最も高かった。一方 TAS2R4 のコルヒチンに対する感度は恒常的 3 色型色覚のホエザルが他よりも有意に低いが、反応強度はマーモセットが他よりも有意に高かった。これらから、新世界ザル種間で苦味感覚に違い



があることが示唆された。しかし、色覚や食性との関連を含め、他の受容体も含めたさらなる研究が求められる。

#### **B-24 添い寝相手との親和性がニホンザルの睡眠に与える影響**

持田浩治（琉球大・熱帯生物圏研究センター） 所内対応者：湯本貴和

社会的睡眠(添い寝や集団での睡眠)の獲得は、霊長類の睡眠の多様性を考察する上で重要なイベントと考えられる。なぜなら集団での睡眠は、泊まり場における寒さや捕食圧といった厳しい睡眠環境を緩和すると考えられるからである。このように社会的睡眠は、しばしば、泊まり場の外的環境に対するリアクションという文脈のなかで評価されてきた。一方、添い寝相手との社会関係といった泊まり場内環境が睡眠に及ぼす影響は、睡眠医学の重要な研究課題にもかかわらず、ヒト以外の霊長類において注目されてこなかった。そこで私達は、鹿児島県屋久島西部に生息する野生ニホンザルの昼夜の行動観察をとおり、親和性や血縁といった添い寝相手との関係が、かれらの睡眠時間にどのような影響をあたえるかを調べた。8月に予備調査として対象群のメンバーの移出入の確認をおこなった後に、翌年の2月から3月にかけて約1ヶ月間、野外調査をおこなった。具体的には、日中の終日同時2個体追跡による直接観察および夜間の赤外線カメラによる観察をおこない、一日の総睡眠時間やその分布、群内の複数個体間の睡眠の同調性について調べた。これらの調査によって得られた結果を解析し、今後、学会や科学雑誌にて発表して行く予定である。

#### **B-25 Male dispersal of the Taiwanese macaque (*Macaca cyclopis*) in Ershui area of Taiwan**

Su Hsiu-hui, Fok Hoi Ting (National Pingtung University of Science and Technology) 所内対応者：川本芳

This research aimed to investigate the population genetics in wild *Macaca cyclopis* at Hengchun peninsula, the south most region of Taiwan. Fecal samples were used to extract DNA, on which *cmcy* control and sexing test were conducted. The good quality and known-sex DNA samples were analyzed by sequencing of mitochondrial DNA (mtDNA) HVR-I and 3 autosomal microsatellite loci.

We found 10 haplotypes from HVR-I analysis, including 7 haplotypes found in both sexes and 3 haplotypes found only in males. Nucleotide variation among the 10 haplotypes is between 1 to 14 base pair, and their pairwise distance is 0.002-0.020.

The result of Maximum likelihood phylogenetic tree and TCS network constructed by HVR-I sequences suggested that *M. cyclopis* at the peninsula diverged into 3 clades, north, central and south. The north clade is located above Highway 200, the central clade is located at Nanrenshan, and south clade is located south to the Sianglin Village. Three rare haplotypes were carried by 3 different males, which may suggest their migration from other unsampled populations or transferring by human to this region.

We tested 79 samples (9 samples in north clade, 1 samples in central clade and 69 samples in south clade) for 3 microsatellite loci, including D7S794, D14S306 and D19S582, which have 5, 6 and 14 alleles, respectively. The result of AMOVA ( $F_{ST} = 0.046$ ) by GENALEX and the number of migrates is 5.136 per generation, which showed recent gene flow among the 3 clades. We are going to analyze more loci to increase the accuracy.

Base on the maternal molecular marker analysis we suggest that there are three clades of *M. cyclopis* at Hengchun peninsula, but the biparental marker analysis shows that there is recent gene flow among clades. Female philopatry may lead to the mtDNA geographical structure, and movement of males among clades occurs.

Key words: population genetics, gene flow, haplotype, male-biased dispersal, *Macaca cyclopis*

#### **B-26 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal**

Mukesh Kumar Chalise (Tribhuvan University) 所内対応者：川本芳

I changed the plan of this cooperative research program due to paucity of fund to visit Japan. I and counterpart tried to found a small facility in Kathmandu to initiate laboratory work for phylogeographical study on Nepalese primates. It became possible to extract DNA from fecal samples by combining sampling and preparation methods originally designed by the counterpart. During the study period, I collected fecal samples of Assamese macaques and Gray langurs in Nepal (see attached map) and succeeded in extracting DNA for DNA typing. In October 2013, I also conducted a field investigation with the counterpart at Ramanagar (for *Semnopithecus hector*) and Aanbookharen (for *Macaca assamensis*) for observation and fecal sampling of langurs and Assamese macaques, respectively.

A preliminary analysis of mtDNA sequencing was conducted in Inuyama by the counterpart. In the analysis of langurs, the applicability of PCR primers was tested for mtDNA direct sequencing. It was necessary to design new primers specific to the control region. Finally, we could make protocols which allow examinations of mtDNA 16S rRNA region and HVR1 (hypervariable region 1). We will apply this new protocol to further investigation of Nepalese primates in future study.

#### **B-27 血液酸素動態分析による歩行中の姿勢制御戦略の検討**

森大志（山口大・共同獣医） 所内対応者：平崎鋭矢

本研究はニホンザルモデルが四足・二足での立位姿勢さらに四足・二足歩行する際の四肢・体幹筋の局所的血液酸素動態の相違を近赤外線分光法(NIRS)によって明らかにすることを目的とした。これにより、各運動課題時の四肢・体幹筋における酸化ヘモグロビン濃度(oxy-Hb)、脱酸化ヘモグロビン濃度(deoxy-Hb)を非侵襲的に計測でき、筋電図では分析困難であった筋の局所的代謝活動といった新規の情報を得ることができると期待される。本年度は実験器機に生じた様々なトラブル(初期不良)解決、さらに動物の実験環境への馴化訓練に時間を要した。そのためサルから記録することはできなかったが、ヒトを対象とした予備実験を実施した。その結果、姿勢変換(静止立位からの前傾)時に腓腹筋内側頭で脱酸化ヘモグロビン濃度(deoxy-Hb)の上昇が観察された。一方、歩行時では歩行中を通して deoxy-Hb とともに酸化ヘモグロビン濃度(oxy-Hb)も下降したが、その中で oxy-Hb も deoxy-Hb も歩行相に応じた下降・上昇が観察された。これらの結果は、NIRSによって筋の局所代謝活動が観察できる可能性を示唆する。図は前腕屈筋群から計測した代表例である。成果の一部は第67回日本人類学会で発表した。



## B-28 心臓を制御する神経系の進化形態学ならびに機能解剖学的解析

川島友和, 佐藤二美 (東邦大・医・解剖) 所内対応者: 濱田穰

これまで心臓へ分布する自律神経系の形態に関して、主に霊長類を対象として解析を行ってきた。このような臓性構造は、機能的修正を受け変化しやすい体性構造とは異なり、比較的保守的な構造であると思われ、近年の分子進化で明らかにされてきたような霊長類の分類群において、各分類群内では比較的類似した構造を示し、分類群間では多様化した比較的段階的な形態変化を有することが示唆された。

そこで今後さらなる形態形成の原則を理解する為に、心臓自律神経系の生態学的環境変化や機能解剖学的変化との関係を明らかにする事を目的として、様々な環境へ適応し、多様性に富む哺乳類全般を対象として解析対象を拡大した。

今年度は、液浸標本の中からフクロモモンガ(*Petaurus breviceps*)1 体を対象として解剖学的解析を行った。現在のところ、有袋類のみならず、霊長類以外の有胎盤哺乳類も多種多数例を対象に解析できていないため詳細は不明であるが、既に解析を行った有袋類の心臓自律神経系の形態は、他の有胎盤哺乳類のそれと大きな相違点を見いだす事はできなかった。また、フクロモモンガは滑空性という特殊な運動様式を持つ種であるが、それに特有な形態の所見の抽出にいたっていない。今後、本共同利用だけでなく、これまでと同様に欧米の博物館や動物園の標本からのデータをさらに収集し研究を継続してゆく予定である。

## B-29 遺伝子解析による三重県内のニホンザルの個体群調査

六波羅聡, 鈴木義久 (NPO 法人サルどこネット) 所内対応者: 川本芳

昨年度、一昨年度に引き続き、三重県内のニホンザルについて、保護管理を検討するため、現存する群れの遺伝的構造を把握すること、和歌山県からのタイワンザル遺伝子の拡散状況のモニタリングを目的とし、本年度は、メス 9 個体について D-loop 第 1 可変域の塩基配列の分析、オス 9 個体について Y-STR 検査を行った。

過去 3 年間の結果を整理したところ、メス 64 個体、オス 75 個体の結果が得られた。

メスの D-loop 第 1 可変域については、26 のハプロタイプに分類され亀山市周辺を境に大きく南北 2 系統に分類された。過去の研究結果の D-loop 第 2 可変域の分析で見られた分類と同じ傾向であった(Kawamoto et al. 2007)。このうち北のグループは、本州系統の遺伝子であると考えられる。南のグループは、紀伊半島固有の遺伝子であると考えられ、三重県内に限られた結果ではあるが、台高山地を中心にして周辺地域へ拡大したことが示唆された。

オスの Y 染色体は、15 タイプに分類された。複数のタイプ内に広範囲の個体が含まれており、多様なタイプが広域に分布していることが確認され、メスで確認された 2 系統間でオス移住による遺伝子交流があることが示唆された。タイワンザル由来とみられるタイプは確認されなかった。

来年度は、遺伝子の広域的・継続的な検討を可能にするための方法を検討しながらサンプル数を増やしていくこと、特にメスについて、遺伝子と地理との関係などの詳細な分析を行うことで、三重県内の群れの状況についてさらに細かく明らかにしていく予定である。

## B-30 マカク歯髄幹細胞を用いた歯髄再生療法の確立

筒井健夫 (日本歯科大・生命歯学部・薬理学講座) 所内対応者: 鈴木樹理

平成 25 年度は、混合歯列期のアカゲザルより採取した歯髄幹細胞について *in vitro* と *in vivo* においてヒト歯髄幹細胞と比較解析を行い日本口腔組織培養学会設立 50 周年記念学術大会・総会にて口演発表を行った。また、乳歯歯髄幹細胞の継代培養と全身麻酔下のニホンザル 3 例(1 歳)の上顎左側中切歯より乳歯歯髄組織の採取を行った。学会発表で報告した歯髄幹細胞は、アカゲザル 2 例 (3 歳: 上顎右側中切歯、側切歯と埋伏犬歯および下顎右側埋伏第二大臼歯)とヒト 1 例(11 歳:智歯)より採取した。*In vitro* では細胞形態観察と細胞増殖、および石灰化誘導能について解析した。細胞形態はヒト歯髄幹細胞でも観察される線維芽細胞様形態を示した。細胞増殖率については、アカゲザルでは上顎右側中切歯の歯髄幹細胞を除いて同様の細胞増殖率を示し、分化誘導により全ての歯髄幹細胞においてアリザリンレッド染色陽性像が観察された。また、ヌードマウスへの皮下移植では、H-E 染色より歯髄/象牙質様形成物が観察された。さらに免疫染色より象牙質形成タンパクである bone sialoprotein 陽性像が観察された。継続して研究を行っている乳歯歯髄幹細胞の継代培養については、培養日数では 770 日、継代数は 153 を越えて現在も培養を行っている。また、全身麻酔下のニホンザルより採取した乳歯歯髄組織は初代培養を行い、高い増殖率を現す細胞では継代培養を行っている。

## B-31 野生ニホンザルのワカモノオスの群れ間移籍と社会関係の維持

島田将喜 (帝京科学大・アニマルサイエンス) 所内対応者: 辻大和

ニホンザルのワカモノオスの出自群の移出・他群への移入プロセスを明らかにするため、金華山 A 群出身のワカモノオス 6 個体を主な観察対象とし、彼らの A 群、隣接群、隣接群追従オスグループ内における社会関係に関するデータを 2007 年から蓄積している。アシモ(10 歳)とフミヤ(9 歳)は、2009 年以降 B1 群追従オスグループを形成し続けていたが、2013 年交尾期にいたって彼らが群れ内の個体とも直接的なインタラクションをもつようになったことを確認した。ラキ(7 歳)はキール(6 歳)は B1 追従オスグループを形成し、アシモ・フミヤとは親和的なインタラクションを行っていた。またこれまで B1 群れオスだったラマ(13 歳)はヒトリオスとして B1 周辺部を遊動していた。フミヤとアシモの行動・社会関係のデータの予備的分析の結果、フミヤの B1 群内の個体との関わり方と、B1 追従オスグループの個体との関わり方には著しい違いがあり、群内ではメスたちと近接する一方、オスグループでは「遊び」やマウンティングを頻繁に繰り返すことが明らかになった。過去 6 年間に蓄積されたデータによれば、オス間の関係性は、出自群から移出した後も長期間にわたり維持され、群れオスは群れ内とオスグループとの間を、頻繁に往来する。このことが、追従オスグループのメンバーが次

に群れオスになることを容易にするというワカモノオスの移籍のパタンを生み出しているものと示唆される。この結果は、金華山個体群という閉鎖系に特有の現象かもしれない。

### B-32 群馬県における猿害の実態と遺伝的多様性について

姉崎智子（群馬自然史） 所内対応者：今井啓雄

2012 年度に引き続き、2013 年度もニホンザルの生息状況および猿害の実態と遺伝的多様性について明らかにし、猿害の削減に役立てることを目的に、利根町、昭和村で捕獲された 17 体のニホンザルを解剖し、食性、繁殖状況等を調べた。本年度の捕獲は 1 月～3 月の冬季に集中していた。栄養状態は良好であり体型指数は 85.3 から 201.4 であり、2 月に最も高かった。食性では 2 体で胃内容物が確認された。分析の結果、トウモロコシ、カキ、ブドウが検出された。カボチャが 11 体から検出されたが、これは誘因餌であった。捕獲位置はいずれも耕作地内および人家周辺であり、捕獲個体は農作物に餌付き人慣れの進んだサルであったと推察された。これらの成果については、県野生動物保護管理計画検討会の基礎資料として活用された。今年度のサル 17 体についても、研究所遺伝子情報分野の苦味受容体遺伝子等の分析に供した。また、本サンプルについて、大阪大学橋本亮太准教授のご指導を賜った。

### B-33 COCH 遺伝子発現の種特異性に関する検討

池園哲郎、松田帆（埼玉医科大）、松村智裕、斉藤志ほ（日本医科大） 所内対応者：高田昌彦

#### ■研究目的

COCH 遺伝子は非症候性遺伝性難聴のひとつ DFNA9 の原因遺伝子である。COCH 遺伝子の蛋白産物である Cochlin は、(1)内耳で蛋白の 70% を占めており (2)4 つの分子量の異なるアイソフォーム (p63、p44、p40、CTP) を持つ、(3)内耳にほぼ特異的に発現している、(4)CTP が外リンパ特異的に存在している事を解明した。ヒト以外では、齧歯類、偶蹄目でも同様に存在し、その発現パターンはヒトと異なっていることから霊長類サルでの検討が重要な意味を持つ。

#### ■研究計画・方法

アカゲザルもしくはニホンザルの外リンパ及び内耳組織蛋白を採取し、ウェスタンブロット法による蛋白解析を行う。

#### ■これまでの研究の経緯と成果

Cochlin は、内耳で最もドミナントな蛋白であるが、その機能はまだ解明されていない。平成 25 年度の研究で、ヒト外リンパでは、16kDa の CTP に相当する蛋白が検出されるが、サル外リンパではこれに加えて 11kDa の蛋白が認められた。興味深いことに脱糖鎖反応により 16kDa の蛋白は 11kDa へと変化することが示された。ヒト以外の霊長類の研究により、Cochlin のアイソフォーム形成メカニズムとその機能の解明が進むと考えられる。

### B-34 大隅半島東斜面におけるニホンザルの群れ分布と猿害の研究

和田一雄（NPO プライメイト・アゴラ バイオメディカル研究所）、市来よし子（大隅半島の自然を考える会）、山田英佑・大出悟・田邊佳紀・山下和輝・浅井隆之・藤田志歩（鹿児島大）、座間耕一郎（林原類人猿研究センター）、竹ノ下祐二（中部学院大） 所内対応者：辻大和

大隅半島東部は 90% 以上国有林に属し、1950-80 年代の大面積皆伐・一斉針葉樹人工林化の施業から免れて、天然照葉樹林が広域に残されている。加えて、稲尾岳（標高 930m）周辺は稲尾岳自然環境保全地域に指定されているので、森林は比較的良好に、海岸までの東斜面も途切れずに維持されている。我々は、9 月 11 日から 6 日間、海岸線から 500m-1km の所にある林道、15.7km を 7 区間に分け、各区間に 1-2 人の調査員を配置して、観察区間の群れ移動を観察した。この間で、3 群を確認した：1) 調査地の東側、大浦集落近くで、14 頭+（成獣メス 6、成獣オス 3、成獣 1、亜成獣 2、アカンボ 1、その他 1）。2) 中間点で、56 頭+（成獣メス 13、成獣オス 8、成獣 4、亜成獣 18、アカンボ 6、その他 7）。調査の西側、打詰川沿いに、66 頭+（成獣メス 23、成獣オス 3、成獣 1、亜成獣 36、アカンボ 2、その他 1）。いずれの群れも全頭計数はできなかったが、かなり大きな群れであろうと予測された。糞は多数集め、食性、ミトコンドリア DNA の分析を行っている。

その後、和田・市来は 9 月 18 日から 10 日間、肝付町と南大隅町を広域に情報集めに歩いた。猿害については、肝付町の岸良、大浦などの限界集落では、人口減少に歯止めがかからず、耕作面積が減少しているので、大きな問題にはなっていない。他方、打詰集落など南大隅町寄りの集落では、水田などに町の補助を受けて簡易電柵を設置し、効果を上げていた。

### B-35 霊長類における髄鞘形成の評価研究

三上章允（中部学院大・看護リハビリテーション学部・理学療学科） 所内対応者：宮地重弘

ヒトや類人猿の脳の発達をみる目的で MRI の T1 強調画像の高信号領域を白質と評価する研究が行われている。神経線維のまわりにある絶縁物質である髄鞘には脂質が多く含まれ、MRI の T1 画像では高信号として記録される。そのため、高信号領域の発達変化は、非侵襲的方法で髄鞘形成の経過をみる有力な手段とされている。しかしながら、MRI の高信号領域が本当に髄鞘形成と相関するかどうかを組織標本で評価した研究はない。本研究では、マカカ属のサルの発達過程で、MRI による高信号領域の評価と組織標本による髄鞘形成の判定を同じ個体で行い、その相関を評価する研究を行った。今年度は、45 日齢のアカゲザルの 1 頭と、10 歳齢のニホンザル 1 頭の脳標本全領域の組織切片を一定間隔でファースト・ブルー染色し白質、灰白質領域の比較を行い、前頭部から後頭部まで皮質領域が乳児期に広いことを確認した。詳細については 4 月現在解析中であるが、8 月の国際霊長類学会で発表予定である。

### B-36 Identification of hybrids between long-tailed and rhesus macaques in a hybrid population in Thailand

I have studied hybrids between long-tailed and rhesus macaques in Thailand (Khao Khieow Open Zoo, KKZ) based on their morphological, behavioral and genetic characteristics. Morphological study was conducted by using relative tail length, pelage color, crown hair, cheek hair and sexual skin. Morphological characteristics of macaques in the study area were divided in groups from long-tailed to rhesus macaques by using cluster analysis. Individuals with known morphological characteristics were selected for behavioral study. Genetic study for the discrimination of rhesus and long-tailed macaques was studied during this cooperative program.

The aim of this study was to use single nucleotide polymorphisms (SNPs) in STAT6 fragments for the discrimination of rhesus and long-tailed macaques according to the Barr et al. (2011) using the techniques adapted and developed by Dr. Kawamoto.

Sixty-four fecal samples (of 54 macaques) from KKZ (2011-2012) were extracted using potato starch method. After amplification for STAT6 genes and checking for amplicons, 21 samples were selected for the SNPs study. In addition, 25 fecal DNA samples of KKZ 2011, 40 blood DNA samples of KKZ 2006 (Drs. Malaivijitnond & Hamada's), 10 fecal DNA of long-tailed macaques at Kasetsart University, Si Racha Campus and nearby area 2011 and 9 crude blood samples of long-tailed macaques from Wang Kaew (WK), Rayong Province 1998 (Dr. Kawamoto's) were also amplified and tested for products of STAT6 fragments. The PCR condition for amplification was step 1; 94°C for 2 hours, step 2; 98°C for 10 seconds, 58°C for 30 seconds, and 68°C for 30 seconds, and step 3; 10°C for infinity. The amplification conditions of STAT6 genes for fecal DNA, blood DNA, and crude blood were KOD-FX x 45 cycles of step 2 (2 repeats), KOD-FX x 35, and KOD-FX x 40, respectively. PCR products checking were by running the amplicons through 2% agarose gel in TAE buffer system.

In Barr et al. (2011), the difference between the 2 species was at base 491 which is A in rhesus and G in long-tailed macaques. When applying Apa I as restriction enzyme, Dr. Kawamoto found that this could be applicable for the discrimination of the two species when checking DNA bands after digestion of STAT6 fragments of each sample. By using Apa I, STAT 6 fragments with G at base 491 were cut while the fragments with A at base 491 were not (Figure1). In cases of heterozygotes, some fragments were cut while some were not. This produced one band of 745 base pairs in rhesus AA type, two bands of 511 and 234 base pairs in long-tailed GG type, and three bands of 745, 511 and 234 base pairs in AG heterozygotes.

Of the 21 fecal DNA samples of KKZ (2011-2012), 18 could be genotyped as 4, 8 and 6 AA, AG, and GG, respectively. Of the 25 fecal DNA samples of KKZ (2011), 24 could be genotyped as 1, 12 and 11 AA, AG, and GG, respectively. For 40 blood DNA samples of KKZ 2006; 4, 24 and 12 were AA, AG, and GG, respectively. Genotypes frequencies of KKZ samples collected in 2006 and 2011 suggested random mating (2006: Fisher exact probability test,  $P=0.8225$ ; 2011: Fisher exact probability test,  $P=0.5936$ , Chi-square = 1.12 ( $<3.84$  at  $P=0.05$ ,  $df=1$ )). Allele frequencies of KKZ sampling in 2006 and 2011 and 2011 and 2011-2012 were insignificant different (Chi-square = 1.53 and 2.09, respectively at  $P=0.05$ ,  $df=1$ ). From 10 fecal samples of long-tailed macaques from Kasetsart University, Si Racha Campus and nearby areas, 8 could be genotyped as GG the others were not detected. All the 9 crude blood WK long-tailed samples were genotyped as GG.

In addition to confirm the SNPs, we checked the sequence of STAT 6 fragments. We checked 4, 2 and 4 AA, AG, and GG of fecal and blood samples from the hybrid population in KKZ. The sequences confirmed all the AA, AG, and GG with 2 AA that could not be detected. Three and 4 samples of long-tailed macaques from the campus and nearby areas and from WK also confirmed GG homozygotes.

The results of this study suggested that SNPs different in STAT6 fragments could be used for the discrimination of rhesus and long-tailed macaques. This could be used as the genetic evidence of hybrids between the two species in KKZ, Thailand.

### B-37 中部山岳地域のニホンザル遺伝子モニタリング

赤座久明 (富山県立八尾高等学校) 所内対応者：川本芳

過去の共同利用研究で、石川、富山、新潟、長野、岐阜の中部5県の山岳地域に生息するニホンザルの群れから、ミトコンドリア DNA 調節領域(mtDNA-CR)(412 塩基対)について、6 タイプの塩基配列の変異を検出した。6 タイプの中の1つの JN21 タイプ(kawamoto et al 2006 による分類)は近畿地方から中部地方の日本海側に広域的に分布し、ニホンザルの群れの分布拡大の経過を検討する上で重要な集団である。JN21 の分布域の中で唯一太平洋側に分布する岐阜県長良川流域の群を対象にして、DNA 試料(糞)の採集と mtDNA-CR 第1可変域(603 塩基対)と第2可変域(412 塩基対)の遺伝子分析を行った。第2可変域に関しては、長良川本流右岸と右岸支流の新宮川流域で JN21 を12例、長良川本流左岸と右岸支流の内ヶ谷で JN22 を18例検出した。2つのタイプは412 塩基対のうち1塩基対が異なるだけの近縁な集団である。DNA による性判別で、JN21、JN22 タイプ共にメスの個体を含む集団であることを確認することができたので、長良川流域にはこの2つのタイプの集団が生息することが分かった。第1可変域では JN21、JN22 にそれぞれ2タイプの変異がみられ、第1、第2可変域を合わせた全領域を比較すると4タイプの集団に分けることができた。日本海側に広域分布する集団が、長良川沿いに北から南に向けて分布域を拡大した可能性が考えられる。

JN21 タイプの分布域周辺で、これまで遺伝子分析の行われていない、福井県九頭竜川流域に生息する群れを対象にして、DNA 試料(糞)の採集とミトコンドリア DNA の D ループ第2可変域(412 塩基対)の遺伝子分析を行った。

九頭竜川本流の上流域で JN22 が6例、支流の真名川で JN30 が15例、新タイプが3例、JN35 が1例、JN22 が1例、笹生川で JN30 が6例、大納川で JN30 が1例であった。この結果から、九頭竜川流域は、本流上流部に JN21 と近縁の JN22 の群れが生息しているが、支流には広範囲に JN30 の群れが生息していることが分かった。JN30 は滋賀、三重、岐阜に分布するタイプで、九頭竜川はこの集団の北端に位置する。

### B-38 チンパンジーの体幹と下肢帯の境界領域における脊髄神経前枝の形態的特徴

時田幸之輔 (埼玉医大・保健) 所内対応者：平崎鋭矢

研究代表者は、腹壁から下肢への移行領域に着目し、ヒト及びニホンザルにて腰神経叢と下部肋間神経の観察を行って

きた。その結果、下肢へ分布する神経(腰神経叢)の起始分節(構成分節)が尾側へずれる変異が存在するが明らかになった(2012、2011、2010、2009、2008)。同様な形態的特徴がチンパンジーにおいても存在するか否かを明らかにすることを目的にチンパンジーの体幹と下肢帯の境界領域における脊髄神経前枝(下部肋間神経、腰仙骨神経叢)の観察を行った。

腰神経叢と仙骨神経叢の境界に位置する分岐神経(仙骨神経叢の上限)を起始分節は L3 であった。詳細に観察すると、L3 から仙骨神経叢へ参加する成分が少ない群(L3 少群)とそうでない群(L3 並群)とに分けることができた。L3 少群の方が L3 並群に比較して、仙骨神経叢の起始分節は、1 分節以内の違いであるが、やや低いと言える。

胴体の特徴的な神経である標準的な肋間神経前皮枝(Rcap)のうち最下端の Rcap の起始分節は、L3 少群で Th12+L1、L3 並群は Th13 と、L3 少群の方がやや低かった。

以上より、胴体(胸部)に特徴的な神経である Rcap、Rcl の起始分節の起始分節が尾側へずれると、分岐神経を中心とした下肢への神経も尾側へずれると言える。これらの変異は胴体の延長に関連した変異であると考えたい。

本研究の成果は第 30 回日本霊長類学会大会にて発表予定である。

#### B-39 霊長類が利用する果実の化学成分特性

安藤温子(京大・農学研究科) 所内対応者: 半谷吾郎

霊長類が生息する大陸島と、霊長類が生息しない海洋島において、動物に散布される果実の適応戦略を評価するため、果実の化学成分を比較した。大陸島である屋久島から 19 種、海洋島である小笠原諸島父島から 33 種の果実を採取し、中性デタージェント繊維 (NDF)、粗タンパク質、粗灰分、粗脂肪の含有率を乾燥重量で算出した。各項目の平均値と標準偏差はそれぞれ、屋久島で  $0.34 \pm 0.18$ ,  $0.054 \pm 0.040$ ,  $0.054 \pm 0.030$ ,  $0.132 \pm 0.195$ 、父島で  $0.481 \pm 0.18$ ,  $0.082 \pm 0.059$ ,  $0.044 \pm 0.020$ ,  $0.122 \pm 0.131$  であった。NDF と粗タンパク質の含有率は、父島において有意に高かった。粗灰分と粗脂肪の含有率においては、島間で有意な差は見られなかった。屋久島においては、霊長類が多様な果実を利用する重要な種子者である一方、父島ではほとんどの果実が鳥によって散布される。今回の結果は、霊長類と鳥類の果実に対する選択性の違いが、大陸島と海洋島における果実の化学成分特性に反映されている可能性を示唆している。今後、対象種や測定項目を増やして詳細な分析を行うことにより、より明確な傾向が見いだされるかもしれない。

#### B-40 アフリカ産オナガザル科霊長類の味覚情報体遺伝子の多様性

松村秀一、赤尾大樹(岐阜大・応生) 所内対応者: 今井啓雄

本研究では、アフリカ東部ウガンダ共和国カリンズ森林に同所的に生息するオナガザル科霊長類であるアカオザル(*Cercopithecus ascanius*)、アオザル(*C. mitis*)、ロエストザル(*C. lhoesti*)の 3 種を対象に、味覚受容体遺伝子の種間・種内変異を分析し、採食生態等との関連を明らかにすることを目的とした。糞から抽出した DNA サンプルを用い、3 つの苦味受容体遺伝子 Tas2r1、Tas2r16、Tas2r38 について塩基配列を決定した。遺伝子毎に系統樹を作成し、多数の核遺伝子に基づいて推定されている 3 種の系統関係と比較した。また、サンプル数の多いロエストザルでは、種内変異についても分析した。その結果、Tas2r1 と Tas2r38 における 3 種の系統関係は先行研究と一致したが、Tas2r16 については一致しなかった。また、ロエストザルでの種内多型が観察されたのは、Tas2r1 のみだった。Tas2r16 では、受容体の機能に影響する可能性のある重要な位置のアミノ酸に置換がみられた。今後は、カルシウムイメージング解析等の手法を用いて、これらのアミノ酸置換が機能に与える影響について調べていきたい。

#### B-41 コモンマーモセットを用いた加齢黄斑変性症に伴う網膜血管新生の発生機序の解明

原英彰、嶋澤雅光、増田智美、古島淳史(岐阜薬科大・薬効解析) 所内対応者: 中村克樹

我が国において、加齢黄斑変性症は中途失明原因の第 4 位を占める疾患であり、近年増加の一途をたどっている。しかしながら、現在臨床応用されている抗体医薬品は硝子体内投与で行われており身体的負担が大きい。そのため新規医薬品開発が望まれているが、よりヒトに近いモデルでの検討が必要である。そこで、我々は加齢黄斑変性症に伴う網膜血管新生の発生機序の解明を目的として、コモンマーモセットを用いてレーザー誘発脈絡膜血管新生モデルの作製を試みた。今年度の研究においてはレーザー照射出力の検討を行った。

眼底カメラ(MicronIII)に取り付けが可能なレーザー照射装置により、マーモセットの黄斑周辺 8 か所にレーザー照射を行った。21 日目フルオレサイト®注射液 1 号 0.5 mL/kg 大腿静脈内投与し造影後の蛍光眼底観察を行い、血管新生からの蛍光漏出を確認した。同日眼球を摘出後、凍結切片を作製した。凍結切片のヘマトキシリン・エオジン染色を行い、レーザー照射部位の組織学的な変化を観察した。

レーザー出力 650、1,000、1,500、2,000 mW で処置したところ、1,500、2,000 mW 処置で照射部位に脈絡膜血管新生を確認した。以上より、出力 1,500 mW のレーザーを用いることでマーモセットのレーザー誘発脈絡膜血管新生モデルの作製に成功した。

#### B-42 ヒト動脈硬化症のアカゲザルモデル作出のための基礎研究

日比野久美子、竹中晃子(名古屋文理大・短大) 所内対応者: 鈴木樹理

京大霊長研のインド由来アカゲザルに、LDLR(低密度リポタンパク質レセプター)遺伝子の LDL 結合領域に Cys61Tyr 変異を有する高コレステロール血症個体を 13 年前に見出し、今年初めて F2 世代でホモ接合型個体が生まれた。ヘテロ接合型成体 6 頭は通常食下で血中 LDL 値及び t-CH(総コレステロール)値が有意に( $p < 0.001$ )高かったので、この家系についてヒト動脈硬化症モデルとなる可能性を検討した。成体オス 3 頭について 0.1%CH 含有飼料を投与し経時的に血液検査を行い、2 頭は LDL 値が顕著に増加し、その内の 1 頭(#1784)は 6 週間で動脈硬化指数 LDL/HDL  $> 3.5$  および t-CH/HDL  $> 5.0$

を超え、モデル作出の可能性を示した。残りの#1774 は LDL 値の上昇が悪く、他のエクソン領域に更なる変異を有している可能性が示唆された。対照群 3 頭のうち 1 頭は 9 週間の 0.1%CH 含有飼料投与で全く LDL 値の上昇を示さなかったが、他の 2 頭の LDL 値は 1.5 倍まで上昇した。更に、ホモとヘテロ接合型の乳児 2 頭の血中 CH の経時変化を追跡中である。通常食下の母乳を飲んでいる状況下の LDL 値は、変異をもたない対照個体 3 頭に比べ 1.4 倍の値を示している。

#### B-43 数学モデルを用いた霊長類大腿骨近位部形態の解析

稲用博史（医療法人社団いなもち医院） 所内対応者：平崎鋭矢

研究の目的は、ヒトとヒト以外の霊長類の骨形状の違いと行動様式の違いを比較し、骨形状の力学的条件を求める事にある。

Wolff の法則に従えば、骨は力学的ストレス(荷重)を受け、力学的に最適な形状になっている。この法則を最適化理論と考え数式で表現し有限要素法を用いて数値的に解を求めると骨に対する力学的条件を推定することが出来る。ヒトとチンパンジーの大腿骨の形状を比較すると、ヒトには、Bicondylar Angle と呼ばれる大腿骨の傾きがある。また、ヒトは直立二足歩行する。これにより、以下の結果を得た。

ヒトの骨盤の形状は内臓を支えるために短く幅広くなった。同時に、ヒトは直立することにより大臀筋を発達させた。発達した大臀筋は腸脛靭帯の緊張を高め、チンパンジーと比べて、より外方から大転子を強く圧迫するようになった。ヒトとチンパンジーの骨形状を求めるために、初期形状と力学的条件を設定し有限要素法を用いて計算し形状を求めた。これにより、Bicondylar Angle は大臀筋力が大ききことにより形成されることが推定された。

#### B-44 抗うつ薬によるマーマセツ海馬歯状回顆粒細胞の脱成熟効果

大平耕司、竹内理香（藤田保健大・総医研・システム医） 所内対応者：中村克樹

我々は、これまでに統合失調症や双極性気分障害の患者死後脳や多数系統の精神疾患マウスモデルにおいて未成熟海馬歯状回(iDG)が生じていることを報告している。一方、野生型マウスに対して、抗うつ薬の慢性投与や脳電撃ショックを処置すると、iDG が生じることをあきらかにしている。これらのことより、iDG の人工的な正常化と誘導が実現できれば、統合失調症、双極性気分障害、うつ病などの精神疾患の治療法に結びつくことが期待できる。昨年度に引き続き、個体数を追加し、抗うつ剤であるフルオキセチン(FLX)の放出ペレットを皮下に埋め込み、4 週間後に脳を固定して組織学的解析を行った。FLX 投与個体において、歯状回顆粒細胞の脱成熟化を確認した。さらに、大脳皮質の前頭前野において、FLX によって新しい神経細胞が産生されていることを見出した。以上の結果は、FLX 投与によって生じる歯状回顆粒細胞の脱成熟や大脳皮質の神経新生が抗うつ効果を担っている可能性を示唆している。今後は、これまでの成果について、学会発表や論文としてまとめたい。

#### B-45 クロリン e6 の逆行性輸送と光反応による投射選択的神経破壊法の開発

額額大輔（生理研・生体システム） 所内対応者：宮地重弘

光活性物質であるクロリン e6(Ce6)を利用した投射選択的神経経路の破壊技術の確立を目指し、昨年度の共同利用研究で行った、運動前野から一次運動野(M1)へ投射するニューロンの選択的破壊に加えて、頭頂連合野から M1 へ投射するニューロンの選択的破壊を試みた。まず、皮質内微小刺激を行い電気生理学的に M1 の前肢領域を同定し、逆行性輸送物質であるデキストランに Ce6 を結合したものを注入した。1 ヶ月後、十分にデキストラン-Ce6 が逆行性輸送された後に、M1 前肢領域に投射している運動前野背側部、および頭頂間溝背側部に近赤外光を照射した。細胞体内に蓄積した Ce6 は光照射により活性化して、活性酸素の一種である一重項酸素を発生する。一重項酸素は細胞のアポトーシスを誘導し、結果として Ce6 を細胞体内に持つ投射ニューロンだけを選択的に破壊する。実験終了後、脳切片を確認したところ、デキストラン-Ce6 は投射元皮質内の第 3 層と第 5 層に逆行性輸送されていることを組織学的に確認した。以上のように、投射選択的神経経路の破壊に必要な技術を獲得できたと考えられる。今後は選択的破壊の効率化を目指していきたい。

#### B-46 狭鼻猿類の大白歯内部形状の比較分析

河野礼子（科博・人類） 所内対応者：高井正成

現生のヒトや大型類人猿について、大白歯三次元形状を詳細に分析した結果、エナメル質の厚さと分布の特徴が、各種の食性に応じた適応的なものであることがこれまでに明らかになっている。本研究は狭鼻猿類のさまざまな種類について、大白歯三次元内部形状を分析することにより、化石資料の系統的位置づけや、機能的特徴を検討することを目指して実施している。本年は中国産の化石類人猿、ギガントピテクス大白歯資料について、分析の結果を論文発表した。ギガントピテクス大白歯はエナメル質の分量が絶対的に多いが、歯の大きさを標準化するとホモ・サピエンスと同程度の厚さであること、また高い歯冠の中でも咬合面付近に特に分厚くエナメル質が分布しており、同じようにエナメル質の厚い化石人類や食性の類似性がしばしば提案されてきたジャイアントパンダのいずれとも異なる食性への適応を遂げた可能性を論じた。また、中国南部・広西産のサル化石資料の種構成・変遷についての論文発表にも参加した。この資料の一部の標本についてマイクロ CT 撮影を実施し、種同定の判断について、内部形状の情報を合わせてさらに検討を進めている。

Kono RT, Zhang Y, Jin C, Takai M, Suwa G (2014) A 3-dimensional assessment of molar enamel thickness and distribution pattern in *Gigantopithecus blacki*. *Quaternary International*, DOI: 10.1016/j.quaint.2014.02.012.

Takai M, Zhang Y, Kono RT, Jin C (2014) Changes in the composition of the Pleistocene primate fauna in southern China. *Quaternary International*, DOI: 10.1016/j.quaint.2014.02.021.

#### B-47 下北半島脇野沢における野生ニホンザルの個体群動態と法面利用の関係

松岡史朗, 中山裕理 (下北半島のサル調査会) 所内対応者: 古市剛史

2012年に81+ $\alpha$ 頭だった87群は、その後しばしばサブグループピングし、2013年2月以降2つのサブグループ(87A群87B群とする)のメンバーが固定した。2012年12月と2013年5月の間に、オトナ♀1頭、0歳3頭、1歳11頭、2歳3頭、3歳♀2頭、4歳♂1頭5歳♂2頭が行方不明となり、2013年3月下旬には1歳1頭の頭骨を発見した。結果として87群由来の2群の合計数は68頭(A群45頭(赤ん坊5頭)、B群23頭(同2頭))と減少した。サブグループピングの際に0~3歳の子どもが親と離れることがしばしば観察され、87群では多数個体の同時消失の前例がなかったため、群れの分裂がこの多数個体消失事件に何らかの影響を与えている可能性が疑われる。分裂後の出産率と赤ん坊の死亡率は、それぞれ、A群50%、38%、B群22%、0%と、分裂前と大差ないようだった。2013年の観察では2群とも分裂前の遊動域を利用し、遊動域の分割・縮小はなかった。A群の法面滞在時間は18%と前年度(17%)同様高かった。

#### B-48 テナガザル (Hylobates) の犬歯の比較形態学的研究: ペア型社会を支持するのか?

山田博之 (愛知学院大・歯学部), 清水大輔 (京大・理学研究科) 所内対応者: 濱田穰

小型類人猿シロテテナガザル(Hylobates lar)について犬歯形態の詳細な記載と大きさの性的二型性を明らかにすることを目的に研究を行った。テナガザルの犬歯は従来いわれているように性的二型性が小さく、雌雄間で形態が非常によく似ている。歯冠側面の概形は上顎犬歯でサーベル形、下顎犬歯は不正四辺形を呈する。オスに較べてメスの形態特徴を挙げると、1)サイズが小さい、2)歯冠浮彫像の発達が弱く、全体に丸みを帯びている、3)下顎犬歯の近心 shoulder の位置が相対的に尖頭寄りにある、4)歯頸隆線がよく発達している。歯冠サイズによる犬歯の性差では、上・下顎の歯冠基底部のサイズや歯冠高でオスの方が有意に大きい。一方、下顎犬歯では歯冠近遠心径に対する歯頸部エナメル質の厚さはメスの方が有意に大きく、強い性差を示す。歯冠の高径、とくに下顎犬歯の尖頭から近心 shoulder までの距離が最も強い性差を示す。犬歯の形態やサイズに性的二型がみられることはペア社会を構成するテナガザルでもある程度雌雄の違いが大ききや形にも存在することを示す。

#### B-49 比較解剖学に基づく体幹-上肢移行領域の形態学的特徴

緑川沙織 (埼玉医大・院医) 所内対応者: 平崎鋭矢

ヒトをはじめとする哺乳類の腕神経叢、特に内側上腕皮神経(Cbm)と肋間上腕神経(Icb)の起始・経路・分布に注目し、肉眼解剖学的に詳細な調査を行ってきた。

ヒトにおいてCbmは、内側神経束の背側層に所属し、第2肋間外側皮枝(Rcl II)と吻合した後に上腕内側から後面にまわり、上腕後面から肘頭までの皮膚に分布する。なお、Cbmはヒトや一部の類人猿に限って出現し、Cbmを持たない種においてはIcbがその分布領域を補う(相山、1968)。

我々は、カニクイザルとブタ胎仔においてCbmとIcbの起始・経路・分布を詳細に観察し、CbmとIcbに代償関係が存在すること、また神経の構成分節に差異が生じることを明らかにした(緑川他、2012)。さらに、そのような差異が種毎の運動様式の差異に伴って変化する胸郭と肩甲骨の位置関係に影響される可能性を指摘した(緑川他、2012)。今回は、運動様式がヒトとマカクの間に対応する類人猿、チンパンジーの腕神経叢について肉眼解剖学的な観察を行った。チンパンジーの腕神経叢では、内側神経束の背側より分岐し、上腕動静脈の背側を通り上腕内側に分布する皮神経(Cbm)が観察された。また、Rcl IIの後枝がIcbとして上腕内側に分布していた。以上より、チンパンジーのCbm、Icbはヒトと近い所見が得られた。

#### B-50 霊長類における神経栄養因子の精神機能発達に与える影響

那波宏之, 難波寿明 (新潟大・脳研・分子神経生物) 所内対応者: 中村克樹

マーモセットは社会行動性の高い霊長類であり、また他の霊長類と比較してその成長も早く、神経発達障害を病因とする統合失調症などのヒト精神疾患をモデル化するには打ってつけの霊長類であると考えられる。共同研究者らは、サイトカインによる脳発達障害ならびにその精神疾患への寄与を中心に研究し、多くの実績をあげてきた。実際、新生仔マウスの皮下に神経栄養性サイトカインである上皮成長因子(EGF)やニューレグリン1などを投与することで、統合失調症のモデルを作成することに成功している。また、最近では、カニクイザル新生児を用いて、同様の実験を8年に渡り実施し、本サイトカイン統合失調症モデルにおける霊長類への適用可能性も報告している。

2010年には、マーモセット新生児へのEGF投与を実施、2011年には妊娠9~11週と妊娠12~14週のマーモセット母体にてEGF投与を行い、現在、その産子の行動発達を観察しているところである。EGF投与を皮下投与されたマーモセット新生児は、思春期を超え、目あわせなどの行動変化が観察されるようになって来ていて、現在、その定量化を試みている。妊娠母体へのEGF投与動物の産子については、これから思秋期を迎える時期になるので、注意深くその行動を観察する予定である。

#### B-51 ニホンザルにおけるサルT細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療

松岡雅雄, 安永純一郎, 三浦未知, 菅田謙治, 田邊順子 (京都大・ウイルス研) 所内対応者: 明里宏文

霊長類研究所にて飼育中のニホンザルの6割はSTLV-1に感染している。これらの末梢血を解析し、CD4陽性Tリンパ球優位にSTLV-1が感染していること、プロウイルス量には大きな個体差があること(0.001%から53%)が判明した。次世代シーケンサーを用いた感染細胞クローナリティの解析により、プロウイルス量が高い個体では感染細胞のクローナルな増殖が認められ、組織によりクローナリティのパターンが異なることが判明した。STLV-1由来のTaxおよびSTLV-1 bZIP



factor(SBZ)は HTLV-1 の Tax、HTLV-1 bZIP factor(HBZ)と同等の機能を有しており、STLV-1 感染ニホンザルは HTLV-1 感染者と病態が類似する有用な霊長類モデルであると考えられた。実際、STLV-1 感染ニホンザルに抗 CCR4 抗体と投与したところ、速やかな感染細胞の減少が認められ、無症候性 HTLV-1 キャリアに対する新しい発症予防法開発に貢献する結果が得られた。これらの成果は国際誌 *Retrovirology* に掲載された(Miura M, et al. *Retrovirology*, 10; 118, 2013.)。現在、このモデルを用いて新規免疫療法の開発を進めている。

#### **B-52 遺伝子分析を利用した飼育下のワオキツネザルの父系判定に関する研究**

佐藤百恵, 中尾汐莉, 高木幸恵 ((財) 日本モンキーセンター) 所内対応者: 川本芳

2012 年度の研究で性成熟雄 14 個体について遺伝子多型の違いがみられたマイクロサテライト DNA マーカーのうち Lc5、Lc6、Lc8、69HDZ091、69HDZ208、69HDZ035 の 6 つの各マーカーに、解析結果の波形が読みやすくなるようテール配列 GTTCTT を組み込み、日本モンキーセンター(JMC)で飼育している 85 頭のワオキツネザルのうち、1 コロニー(23 個体)について父子判定を行った。当初はワオキツネザルの体毛から遺伝子分析を進めていたが、途中で DNA の収率が低く解析困難な個体が増加したため、サンプリングの方法を見直した。樗類の細い枝を 10 cm 程度の長さに切り先に十字の切り込みを入れ、そこに落花生等の餌を挟み込み対象個体に齧らせた。それを溶解緩衝液入りのチューブに直接浸したもののから口内細胞由来の DNA を調製した。23 個体の遺伝子型分析を行ったところ、安定して結果が得られた。2011~2013 年の間に出生した 9 個体について判定したところ、同コロニーの性成熟雄 4 頭のうち 2 頭が父親になっていることが判明した。今後は、まだ解析していない他のコロニーの個体を解析し JMC で出生した個体について父親を特定し、家系図を作成したうえで、近交係数や行動観察とデータの比較を行っていく予定である。

#### **B-53 Morphological correlates of a behavioral propensity for tool use in primates: a comparative macaque model.**

Charmalie AD Nahallage (University Sri Jayewardenepura) 所内対応者: Michael A Huffman

Previous research has analyzed the dimensions of the metacarpal of chimpanzees, Olduvian hominids and humans to make a case for determining the dexterity of fossil hominids. Our study attempts to extend this comparative focus to monkey species with known propensities for fine precision grip of objects. We chose the Japanese macaque based on our field studies of stone handling behavior, which demonstrate great manual dexterity in the manipulation of stones using grips similar to chimpanzees and humans. A total of 100 Japanese macaque metacarpals (50 males and 50 females) were selected from the Primate Research Institute's skeletal collection. We measured the pollical metacarpal head breadth and the length of the pollical bone. While analysis is still underway, the index derived from the ratio of these measurements place the Japanese macaque well within the range of humans and chimpanzees with regards to dexterity. The next step is to obtain measurements from the metacarpal of capuchin monkeys, a Neo-tropical species also well known for its ability to use stone tools for the processing of hard nuts, similarly to chimpanzees in Western Africa.

#### **B-54 霊長類におけるエピゲノム進化の解明**

一柳健司, 佐々木裕之, 福田溪 (九州大・生医研) 所内対応者: 今井啓雄

我々は霊長類におけるゲノム進化とエピゲノム進化の関係を解明するため、ヒト、チンパンジー(霊長類研究所の飼育個体)、ゴリラおよびオランウータンの末梢白血球の DNA メチル化比較研究を行い、CTCF タンパク質の結合配列の出現・消失やマイクロサテライト配列の小さな変化によって、DNA メチル化状態が変化し、転写状態に影響を与えていることを世界で初めて示した(Fukuda et al. 2013, *J. Human Genet.*58:446-454)。

本年度は GAIN よりニホンザル精子サンプルを供与頂き、ヒト、チンパンジー、ニホンザルの精子メチル化状態をゲノムワイドに比較解析した。興味深いことに、ヒト特異的に大きな低メチル化領域(数十 kb 以上)が多数出現していた。これらの領域は核膜結合領域に多く、コピー数多型などヒト集団内でのゲノム構造多型が見られる領域でもあった。一方、小さな領域(1kb 以下)のメチル化変化については、CTCF などの転写因子の結合配列変化に加え、SVA や Alu といったレトロトランスポゾンの種特異的な挿入により、周辺のエピジェネティック状態が変化することを明らかにした。

#### **B-56 霊長類の前肢帯骨格の可動域解析**

加賀谷美幸 (広島大・医歯薬保) 所内対応者: 濱田穰

肩関節は、前肢帯(肩甲骨と鎖骨、筋群)に支えられて胸部上で位置をさまざまに変える。前肢の挙上に伴い前肢帯骨格はどのような位置をとるか、その可動範囲と骨格形態との関係を分析するため、霊長類研究所のニホンザル(11 個体)とアカゲザル(3 個体)の成体を麻酔し計測した。三次元デジタイザにより、受動的な挙上位や力を加えない自然位における肩甲骨の内側縁や肩甲棘、鎖骨、胸骨、上腕骨の上顆、脊柱などの三次元座標を体表から取得した。装置を前年度から改良し、被験体を 30 度傾斜の腹当て付き座面に前傾で座らせ、腕を任意の位置で固定するクランプをスライド式に支える自立式フレームを制作した。前方あるいは側方に腕を挙上する場合、ヒトでは肩甲骨が上方回旋して関節窩を頭側に向けるが、マカクザルでは肩甲骨が回旋とともに胸部の背側へ偏位して内側縁が脊柱の棘突起と干渉し、また、肩と下顎が接触して可動範囲を制約していた。上記被験体のうち 4 個体のニホンザルを背臥位で CT 撮影したところ、鎖骨外側半の位置は第 5-7 頸椎レベルで、ヒトにみられるより鎖骨が挙上傾向にあり、肩甲骨の上方回旋の可動範囲が大きいことを示唆した。

#### **B-57 加齢変化特性を考慮できるニホンザルの四足歩行計算機シミュレーション**

長谷和徳, 林祐一郎 (首都大・理工) 所内対応者: 平崎鋭矢

本研究では、ニホンザルモデルを用いて、霊長類のオトナ期における筋・骨格の加齢変化を調べ、運動能に対するそれ



らの影響を明らかにするため、これらの力学的な特性を考慮・反映し得る四足歩行の計算機シミュレーションモデルの構築を試みた。霊長類研より提供を受けたニホンザルのモーションキャプチャデータや歩容の特徴の知見を参照し、運動制御モデルの構築を行った。具体的には、足先の軌道をパラメトリックに生成できる関数の導入、四肢の運動位相を適応的に変更可能な位相振動子の導入、足部反力負荷に応じた運動位相調節機構の導入などを行った。関節受動抵抗などの身体の骨格系の力学特性についても霊長類研より情報提供を受け、15 節、24 関節自由度の力学モデルを構築した。シミュレーションでは足部反力など含め、ニホンザルの特徴をよく表す歩行様式を実現できるようになった。また、身体の重心位置に応じて四肢の運動位相を前方交叉型と後方交叉型に遷移させるシミュレーションにも成功し、身体力学特性と歩容との関係を本モデルで分析できることを示した。ただし、加齢変化特性についてはまだ十分にモデル化できていないところもあり、今後の課題としたい。

#### B-58 一卵性多子ニホンザルの作製試験

外丸祐介，信清麻子（広島大・N-BARD），畠山照彦（広島大・技術センター） 所内対応者：岡本宗裕

遺伝的に均一な霊長類個体を得る手段として受精卵分離および受精卵クローン技術による一卵性多子ニホンザルの作製を目指し、関連技術の検討を行った。昨年度に引き続き、体外成熟卵子からの受精卵作製手段として体外受精・顕微授精を実施した。射出精子を用いた場合には受精卵は得られなかったが、経皮的に採取した精巣上体精子を用いることで53%の受精率が得られ、受精卵の38%が胚盤胞へ発生した。しかし、これらの精子を凍結保存した後に体外受精に供試した場合は、何れも受精卵は得られなかった。これに対し、顕微授精では高率に受精卵を作製できた(79%)が、胚盤胞へ発生は低率(6%)であり、手法改善の余地があると考えられた。また、これらの技術を基盤として得られた受精卵を用いて分離試験を実施した結果、4分離した場合でも胚盤胞まで発生可能であることを確認した。今後は、より詳細なデータの収集と、分離胚からの個体作製に取組む予定である。

#### B-59 ニホンザル群における食物摂取と栄養状態および繁殖成績の関係について：幸島群と高崎山群の比較

栗田博之（大分市教育委員会・文化財課） 所内対応者：濱田穰

幸島での写真計測による体長計測は、7月に実施し、メス14個体についてデータ収集を行った。また、高崎山のメスに対する写真計測法による体長計測は、9月に実施し、6個体のデータ収集を行った。まだ十分なデータ解析は行えていないが、幸島群では特に20歳以上の高齢個体のデータが少なく、2個体群での十分な比較は今後の課題である。

また、サルの重要な自然食物であるアラカシ・マテバシイ・ウラジロガシの堅果生産量を調査するために幸島に設置した4箇所のシードトラップからは、京都大学野生動物研究センター幸島観察所所員の全面的な協力の下で、ウラジロガシの堅果123個とアラカシの堅果62個を回収できた。一方、高崎山に設置した5箇所のシードトラップからは102個の堅果を回収したが、登山者によると思われるシードトラップの横倒しがあり、正確な落下量調査ができなかった。なお、シードトラップによる調査結果の一部は、2013年12月発行の「霊長類研究」に「調査・技術報告」として、掲載された(29巻55-61頁)。

また、2011年度より行っている幸島群における餌獲得量調査は、実施予定時期(10月下旬)に台風の接近があり、また、別日程での調査が不可能であったため、2013年度は実施できなかった。

#### B-60 霊長類における懸垂運動機構の機能形態学的解析

大石元治（日猷大・獣医），荻原直道（慶応大・理工），菊池泰弘（佐賀大・医），小藪大輔（東京大・博物館）

所内対応者：江木直子

類人猿に認められる幅の広い胸郭や球状の上腕骨頭といった形態的特徴は、頭部より上に前肢を挙上させる懸垂運動と関連が深い。しかし、類人猿のなかでも懸垂運動の種類や出現頻度に大きな違いが認められ、懸垂運動への適応と一様に考えられている形質にも影響を与えると考えられる。近年、霊長類を含めたさまざまな動物において数理モデルを用いた研究が進められており、ロコモーションと運動器の関係を研究する上で有用な手法となる。しかし、筋骨格モデルには筋や骨の定量的データを得ることが必要不可欠であるが、これまでに行われてきた霊長類の解剖学的研究におけるデータは必ずしも筋骨格モデルの作成という目的に合致したものではない。本研究は懸垂運動を行う霊長類の筋骨格モデルの構築を念頭に、筋や骨のパラメーターを得ることを目指して実施している。本年はチンパンジー(1個体)とオランウータン(1個体)のCT撮影を行い、胸郭形状の三次元データの入手を試みた。

また、筋パラメータを入手する目的で同個体の四肢を解剖し、付着部や走行を観察した。今後はこれらのデータをもとに数理モデルの作成や3次元形態計測を行う予定である。

#### B-61 霊長類におけるマラリア感染関連遺伝子の分子進化的解析

大橋順，中伊津美（筑波大・医） 所内対応者：今井啓雄

ヒトの endothelial protein C receptor (EPCR)には膜結合型と分泌型の二種類が存在し、膜結合型 EPCR は熱帯熱マラリア原虫の赤血球表面抗原 PfEMP1 のレセプターとして機能することが報告されている。EPCR の膜結合型と分泌型の産生量には個人差が存在し、EPCR をコードする、protein C receptor (PROCR)遺伝子の単一塩基多型 rs867186 の G アリルを保有すると分泌型の産生量が高く、A アリルを保有すると低いことが知られている。共同研究により試料提供を受けた西チンパンジーの当該部位の配列解析から、G アリルはヒトの系統で起きた突然変異であると考えられた(3匹の西チンパンジーは全て A アリルを保有していたため)。熱帯熱マラリアに感染した 341 名のタイ人重症マラリア患者と 336 名のタイ人軽症マラリア患者の rs867186 遺伝子型を解析したところ、rs867186-GG 保有者頻度が軽症マラリア患者群において統計学上有意に高く(P = 0.026)、派生型アリル G が重症マラリア抵抗性と関連していることが確認された。このことは、分泌型

EPCR が感染赤血球表面上の PfEMP1 に優先的に結合することが、膜結合型 EPCR と感染赤血球との結合を阻害し、sequestrationを防ぐことにより重症化抵抗性を示すことを示唆している。次に、マラリア患者7名と西チンパンジー3匹について、PROCR 遺伝子の全コード領域の配列決定を行った。ヒトとチンパンジーの配列比較を行ったが、ヒト系統の PROCR 遺伝子に自然選択が作用した痕跡は検出されなかった。

#### B-62 ニホンザルフォーミウイルスとニホンザルとの共進化の可能性

宮沢孝幸, 吉川祿助, 下出紗弓, 中岡里江 (京都大・ウイルス研) 所内対応者: 岡本宗裕

ヒト以外の霊長類は独自のフォーミーウイルス(FV)を保有しており、種間レベルで宿主と FV は共進化してきたことがわかってきた。ニホンザルは我が国で独自に進化してきたマカク属のサルであり、北は下北半島から南は屋久島まで広範な地域に生息しており、地域ごとに特色のある集団を形成している。本研究は種間レベルではなく、集団レベルで FV と共進化しうるか調査した。京都嵐山生息2頭及び鳥取若桜生息2頭の末梢血単核球より FV を分離し若桜由来の一頭の FV の全長配列を決定した。この FV の配列はアカゲザルの FV(R289HybAGM)と近縁であることがわかった。さらに、残り3頭の FV のポリメラーゼ領域の一部の配列を決定し、系統解析をした。その結果、同じ生息地由来の FV は同一クラスターを形成したが、嵐山由来と若桜由来の FV は異なるクラスターを形成した。このことから、ニホンザルは集団毎に独自の FV を保有していると考えられる。ニホンザルは約 40 万年前に大陸より日本に移動してきたとされているが、その後の日本国内でどのように移動したかについては詳細にはわかっていない。今回の結果から各集団の FV を比較することで、詳細な移動歴が解析できると考えられる。今後は、さらに検体数を増やし調査していきたい。

#### B-63 ヒト膣炎のモデル動物作出のための霊長類の膣内細菌叢に関する研究

野口和浩 (熊本大・院・生命科学) 所内対応者: 平井啓久

ニホンザルの膣内細菌叢を明らかにするために、今回は管林キャンパスで維持されている9~19歳の5頭(A群)とバイオリソースプロジェクトとして異なる施設で維持されている7~19歳の5頭(B群)について検討を加えた。ニホンザルの膣内からは今回もこれまでとほぼ同様に5種類の通性嫌気性菌群(*Enterobacteriaceae*, *Streptococci*, *Staphylococci*, *Corynebacterium*, *Lactobacilli*)と3種類の嫌気性菌群(*Bacteroidaceae*, Gram-positive anaerobic cocci(GPAC), Gram-positive anaerobic rods (GPAC))が検出されたが、A群とB群との個体間に若干の違いが認められた。すなわち、通性嫌気性菌である *Enterobacteriaceae* はA群からは全く検出されなかったが、B群では4/5例(80%)から検出され、しかも分離菌数も106.7(CFU/vagina)と高い値を示していた。また、*Streptococci* はA群およびB群ともに検出率は5/5例(100%)であったが、その分離菌数はA群が106.4(CFU/vagina)に対してB群が103.6(CFU/vagina)と、B群の値はA群よりも1/1000程度低値であった。一方、嫌気性菌群ではA群およびB群ともに *Bacteroidaceae* および GPAC が優勢菌として存在しそれほど大きな違いがないことが確認された。以上の成績より、ニホンザルの膣内細菌叢の構成はその個体の由来や生育施設の環境の違いにより影響を受け異なることが示唆された。今後はさらにニホンザルの膣内細菌叢が月経周期間でどのように変化するか、また膣内 pH あるいは性ホルモンとの関係などを明らかにし、ヒトの膣内細菌叢との比較を行いたいと考えている。

#### B-64 マーモセットにおける養育個体のオキシトシン濃度

齋藤慈子 (東京大・院・総合文化) 所内対応者: 中村克樹

神経ペプチドであるオキシトシンは、げっ歯類の研究から、社会的認知・行動に関わっていることが知られているが、いまだ霊長類の社会行動とオキシトシンの関係についての研究は数が少ない。本研究は、家族で群を形成し協同繁殖をおこなう、コモンマーモセットを対象に、母親だけでなく父親の、母親妊娠時および養育時のオキシトシン濃度を調べることを目的とした。前年度、マーモセット型のオキシトシンを合成し、市販のオキシトシン測定用 EIA キット(ヒト、マウス用)を用いて、マーモセット型のオキシトシンが測定可能であることを確認した。乳児回収テストにより測定された養育のモチベーションと尿中オキシトシン濃度との関係を調べたが、有意な相関はみられなかったため、本年度はケージ内での背負い行動の観察と採尿を行った。これまでのところ、サンプル数が十分ではないため、引き続きサンプル数を増やしていく予定である。

#### B-66 サルの匂いに対する先天的な恐怖反応の解析

小早川令子, 小早川高, 伊早坂智子, 松尾朋彦 (大阪バイオ・神経機能学) 所内対応者: 中村克樹

恐怖臭はマウスに対して恐怖に関連した行動や生理応答や脳活動を誘発する一連の匂い分子として同定された。恐怖臭はラットやウサギに対しても忌避行動やすくみ行動を誘発した。また、恐怖臭はブタに対してはマウスと同様の心拍数や体深部温度の低下と、マウスと逆に鼻先の体表面温度の顕著な上昇を誘発した。アカゲザルでは一部の恐怖臭によって顔面の表面温度の弱い変化が誘発されたが、明確な応答は認められなかった。恐怖臭が動物種によって異なる応答を誘発するメカニズムを解明するために、恐怖臭に対して特異的に応答する受容体遺伝子を、全マウス嗅覚受容体発現スクリーニング系を構築し解析した。その結果、恐怖臭に特異的に応答する恐怖受容体ファミリーの候補を同定した。恐怖受容体ファミリーはマウス、ラット、ブタで9~13種類存在した。その一方で、アカゲザルやカニクイザルでは2種類しか存在せず、マーモセットでは1種類も存在しなかった。興味深いことにヒトでは5種類存在した。今後、恐怖受容体ファミリーの機能をマウスで解明すると共に、各種生物の受容体と恐怖臭の結合活性を解析することで恐怖応答と嗅覚受容体遺伝子との関連を解明する。

### B-67 SIV/SHIV/HIV-1mt の非ヒト霊長類細胞における増殖能

三浦智行（京都大・ウイルス研） 所内対応者：明里宏文

霊長類研究所のアカゲザルの血液を提供して頂き、当研究室の P3 実験室内で比重遠心法により単核細胞を分離する。そこから適切な培養方法を用いることにより、リンパ球やマクロファージの培養系にもってゆき、新規に作製した SIV/SHIV/HIV-1mt 等の組換えウイルスを感染させる。感染後、培養上清中のウイルス RNA 量、逆転写酵素活性、感染力価や感染細胞中のウイルス抗原、アポトーシスマーカーあるいは細胞の生存率等を調べることにより、アカゲザルにおける新規作製ウイルスの感染性、増殖能、細胞障害活性などの性状を明らかにする。それらの基礎情報をもとに、さらにゲノム改変を加えたり、種々の新規作製ウイルスの中からウイルス研究所のサル感染実験施設でウイルス接種実験を行うウイルスを決定する。また、感染実験を行ったサルからのウイルスの再分離や、その *in vitro* での性状解析も提供して頂く血液で行う。

以上の実験計画で研究を遂行する予定であったが、25 年度は組換えウイルスの作製が予定通り進まなかったために血液供給実績はなかった。

### B-68 ニホンザルのアメーバ感染に関する疫学研究

橘裕司（東海大・医）、小林正規（慶応大・医）、柳哲雄（長崎大・熱研） 所内対応者：岡本宗裕

最近、赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)と形態的には鑑別できない新種のアメーバ(*E. nuttalli*)がサル類から見つかった。本研究の目的は、ニホンザルにおける腸管寄生アメーバの感染実態を明らかにすることである。今年度は、大分県高崎山において餌付けされている野生ニホンザルの糞便 61 検体を採取した。糞便から DNA を抽出し、赤痢アメーバ、*E. dispar*、*E. nuttalli*、*E. chattoni*、大腸アメーバ(*E. coli*)、*E. moshkovskii* について、PCR 法による検出を試みた。その結果、*E. chattoni* が 58 検体(95%)、大腸アメーバが 39 検体(64%)において陽性であった。また、*E. dispar* が 1 検体(1.6%)のみ陽性であったが、その他の 3 種の *Entamoeba* は検出されなかった。今回検出されたアメーバは、全て非病原性のアメーバであった。これまでの他地域における調査でも、*E. chattoni* 感染は高率に認められ、赤痢アメーバは検出されていない。一方で、*E. dispar*、*E. nuttalli*、大腸アメーバの感染の有無については地域差があり、特に *E. nuttalli* は西日本にはあまり分布していないことが、今回の調査においても確認された。

### B-69 ニホンザルの仙骨神経叢とその周辺構造物の観察-特に神経と血管の位置関係に着目して-

姉帯飛高（埼玉医大・院医） 所内対応者：平崎鋭矢

ニホンザル 5 体 10 側を対象に、上殿動脈(Gs)が仙骨神経叢を貫く位置と、大腿神経(F)、閉鎖神経(O)、腰仙骨神経幹(Tr)に分岐する分岐神経(Nf;仙骨神経叢上界)の起始分節の関係を調査した。

Gs の貫通位置は L7/L7 間、S1/S1 間が観察された。

1) L7/L7 間(2 側):Nf 起始分節は L5(2 側)であった。F、O、Tr の 3 枝の相対的な太さの関係は  $Tr > F > O$  で L5 の仙骨神経叢への参加が多い例(1 側)、 $F > Tr > O$  で神経叢への参加が中等量の例(1 側)があった。後者は前者に比べ神経叢構成分節が低い。

2) S1/S1 間(8 側):Nf 起始分節は L5(2 側)、L5+L6(2 側)、L6(4 側)であった。L5 の例は 3 枝の太さが  $F > O > Tr$  で L5 の神経叢への参加が少なく、その構成分節は 1) の例より低い(2 側)。L5+L6(2 側)、L6 の例の神経叢構成分節はさらに低い。

以上より、仙骨神経叢構成分節が高いと Gs の貫通位置も高く(L7/L7)、神経叢構成分節が低いと Gs の貫通位置も低い(S1/S1)。よって、神経叢構成分節が頭尾側へズレると Gs の貫通位置も頭尾側へズレる傾向がある。代表研究者はヒトの Gs と仙骨神経叢の位置関係についても調査し同様の傾向を見出していることから、霊長類に共通した形態形成的変異である可能性が示唆された。

### B-70 Factors underlying mouth versus hand-feeding among Koshima macaques

Cecile Sarabian（Rennes I University） 所内対応者：Andrew MacIntosh

Hygiene – behaviors that maintain cleanliness – is universal among humans but remains a concern in epidemiology. Parasites, which impact health and biological fitness, are ubiquitous in nature and thrive in unsanitary conditions. Therefore, hygiene can be interpreted as an adaptive strategy to avoid infection. To address the biological basis for hygiene in humans, I developed an observational and experimental approach to test whether Japanese macaques of Koshima island (*Macaca fuscata fuscata*) display patterns of behavior consistent with Parasite Avoidance Theory. First, “hygienic” behaviors (e.g. rubbing or washing food) were recorded during focal observations of adult females (N=20). Second, I conducted field-experiments (N=33 trials) with females (N=14) and males (N=3) in which wheat was placed near fresh feces and plastic feces (condition 1) or on both feces plus a control (a piece of plastic notebook; condition 2). Preliminary results suggest that the performance of hygiene behaviors is positively associated with parasite richness. Experimental results remain unclear, but most individuals rejected wheat placed on fresh and plastic feces and all of them ingested wheat placed near them or on the control substrate. I am continuing this work at Koshima for my Master’s internship at the University of Strasbourg. I expect these results to improve understanding of behavioral mechanisms of parasite avoidance and evolutionary origins of human hygiene.

### B-71 Parasites of the primates at the Endangered Primate Rescue Center, Cuc Phuong, Vietnam

Carloyn Wang（University of Melbourne） 所内対応者：Andrew MacIntosh

From Feb 3-21st 2014 I examined fecal samples collected by Andrew MacIntosh and Mike Huffman from the Endangered Primate Rescue Center in Vietnam. The goal of this brief study was to detect the presence of helminth eggs, and identify them if possible, in sample from hatinh langurs (*Trachypithecus hatinhensis*), red-shanked douc langurs (*Pygathrix nemaeus*), gibbons (*Nomascus* sp.),

and Delacour's langurs (*Trachypitecus delacouri*). All samples were processed using (1) sedimentation via a formalin-ethyl-acetate procedure and (2) flotation via Sheather's solution. Slides from the samples were then scanned using light microscopy. I was able to identify *Trichuris* sp. eggs in samples from all four primate species, and *Strongylid* and *Strongyloides* sp. in the *P. namaeus* samples. There were also a number of as yet unidentified specimens from all samples which were photographed for future identification.

#### **B-72 Does parasite removal affect fractal complexity in vervet (*Chlorocebus pygerythrus*) behavior?**

Jan Gogarten (McGill University) 所内対応者: Andrew MacIntosh

During my 2014 Cooperative Research Program I had hoped analyze data collected from wild vervet monkeys, but that field season was cancelled. Instead, I spent most of my time at PRI analyzing a data set given to Dr. MacIntosh by Dr. Sarah Turner of McGill University who has worked extensively with the Japanese macaques at Awajishima. Our aim was to characterize the scaling in behavioral organization of normally-developed macaques versus macaques with congenital limb malformations. However, because of a number of methodological considerations, including short sequence lengths (30 minutes) and considerable out of sight time, it remains unclear whether these data lend themselves appropriately to fractal analysis. Still, they provided a valuable opportunity to discern limitations in this research field and practice programming of analyses for future projects assessing the impacts of disease on wild primate behavior. I hope to continue working with these data and produce results that can be published in the coming months. In addition, the methods and ideas generated while at the PRI will be applied to my dissertation research and allow me to analyze data collected in the Ivory Coast and Uganda to understand drivers of primate disease dynamics and health.

#### **B-73 Methods for Bio-logging primates**

Yan Ropert-Coudert, Akiko Kato (Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, Univ. Strasbourg)

所内対応者: Andrew MacIntosh

On 2nd August 2013, collars with iGotU® GPS devices and Axy-2® accelerometers were attached to two male Japanese macaques (id's: N118, N128) from the outdoor-enclosed Group 7 at the Research Resource Station (RRS) of the Kyoto University Primate Research Institute (KUPRI). The macaques were baited into the holding pen, transferred into individual cages and anaesthetized by trained veterinary staff to minimize stress during collar attachment. Both males were monitored in their individual cages for signs of distress. Some attention was paid by each to the newly-added collars as the anaesthetic wore off, but neither reacted strongly to their presence. After ca. 3 hours, the animals were released into their outdoor enclosure. GPS devices collected data at 4-minute intervals for 9 and 12 days, respectively. Accelerometers only collected data (at 25Hz) for ca. 3 days due to water damage to the batteries caused by heavy rains. In addition, video data recordings were made of each male around the feeding grounds on 5 days post deployment to validate accelerometer readings. We are currently in the process of analyzing these data to inform future studies wishing to investigate primate behavior through high-resolution automatic data logging techniques.

#### **B-74 Parasite removal and physiological stress in Japanese macaques of Koshima**

Elodie Thomas (University of Tours) 所内対応者: Andrew MacIntosh

Nematodes are among the most prevalent intestinal parasites around the world. The scientific understanding of nematode parasitism is well documented but remains incomplete, especially concerning parasite life cycles in wildlife and impacts on host immune systems. Generally, studies consider that negative conditions of the host, e.g. stress, tend to promote infection. However, few studies tested the relationship in the opposite direction: that intensity of infection might increase host stress. Our study used an experimental approach to better understand host-parasite relations in wild conditions. To do this, we studied Koshima Japanese macaques (*Macaca fuscata*) because they are free-ranging yet can be experimentally manipulated. We examined 20 adult females in two groups: control and treated with anthelmintic medicines (Dronal Plus® and Stromectol®). We focused on four parasite species: *Oesophagostomum aculeatum*, *Trichuris trichiura*, *Streptopharagus pigmentatus* and *Strongyloides fuelleborni*. We used non-invasive methods to estimate the infection intensity, eggs per gram of feces (EPG) via microscopy and to evaluate the stress levels via ELISA analysis of fecal glucocorticoid metabolites. Our results show that anthelmintic treatment reduces parasite richness and intensity of  $\frac{3}{4}$  parasite species. However, there was no relationship between treatment and fecal glucocorticoids, indicating that factors other than parasite infection drive stress dynamics.

#### **B-75 Does parasite infection affect Japanese macaque behavior and body condition?**

Guilhem Vaissiere (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) 所内対応者: Andrew MacIntosh

Nematodes are parasites found everywhere around the world on both domestic and wild animals and they are the cause of numerous deaths. The parasites of Japanese macaques over the archipelago are well known thanks to previous studies. A previous study on Koshima identified four of these nematodes on the islet monkeys: *Oesophagostomum aculeatum*, *Strongyloides fuelleborni*, *Streptopharagus pigmentatus* and *Trichuris trichiura*. This study was originally designed to measure effects of infection on macaques, but changed to examining the summer reinfection period instead, which should give clear indication of variation in health risks across individuals. From June 6th 2013 to August 16th 2013, I collected 97 fecal samples from 20 adult female macaques, 10 control and 10 treated by Dr. Andrew MacIntosh with common anthelmintics to remove parasites (last treatment before current study: May 2013). Linear mixed-effect models were used to test the efficiency of the treatment to reduce both prevalence and intensity of the infection. The same models were also used to assess the reinfection process during summer. Treatment was effective against most parasite species. However, variation in reinfection across macaques was unclear, possibly because of interactive effects between parasites which were observed in some cases. More data will be required to assess health risks of infection.

#### **B-76 マカク属霊長類における感染症抵抗性の多型と表現型解析**

安波道郎 (長崎大・熱帯医学研究所) 所内対応者: 平井啓久

東南アジアの *Macaca* 属分布域に重複してサルマラリアの流行が見られることから、ヒト民族集団のゲノム進化での熱

帯熱マラリア原虫の影響に似て、*Macaca* 属の種分化にともなうゲノム進化にサルマラリア感染が関与してきたと想像できる。実際、東南アジアに流行し、日本列島では見られないサルマラリア原虫 *Plasmodium coatneyi* は、流行地に棲息するカニクイザルでは感染後に宿主の防御系の働きによって自然に排除されるのに対して、自然界では触れることのないニホンザルへの実験感染では例外なく重症化し、抗原虫療法をしなければ致死的な経過をとることが知られている。前年度までに、獨協医大・川合寛博士と共同で実施したカニクイザルおよびニホンザル、各2個体の *P. coatneyi* の実験感染時の経時的採血から、血漿中サイトカイン応答の種間差を明らかにした(発表準備中)。今年度は 霊長研にて維持されているニホンザルおよびアカゲザル個体群を対象とし、末梢血単核細胞分画を用いてマラリア由来の病原体関連分子パターン受容体とされる Toll 様受容体 TLR9 の核酸リガンドに対する反応性の種差・種内個体差を解析した。現在 TLR9 の核酸リガンドに誘導されるケモカイン遺伝子転写を説明する遺伝子多型を検索している。

#### B-77 ニホンザルの中手骨と中足骨に関する機能形態学的研究

日暮泰男 (大阪大・院・人間科学) 所内対応者: 平崎鋭矢

本研究の目的は、ニホンザルの中手骨および中足骨の形態と運動機能との関連を調べることであった。霊長類研究所に所蔵されている20個体分の骨標本について、レーザースキャナ(DAVID Laserscanner)を用いて三次元モデルを作成し、このモデルから骨幹中央部の total subperiosteal area (TA)を算出した。TAは、材料の断面強度の指標の一つである断面2次極モーメントと強い相関があることが知られている。第1~5中手骨をTAの大きい順に並べると1>3>4>2>5であった。第1~5中足骨をTAの大きい順に並べると1>3>2>4>5であった。TAと歩行時に中手骨および中足骨にかかる荷重の大きさとの関係を調べたところ、対応関係は部分的であった。この結果から、ニホンザルの中手骨と中足骨の形態は歩行よりもさらに大きな荷重のかかるロコモーション様式とも関係している可能性や、把握などのロコモーション以外の運動機能とも関連している可能性が示唆された。また、以上の研究で使用した骨標本の中の4個体分についてCT撮像をおこない、従来より知られているTAと断面2次極モーメントとの強い相関がニホンザルの中手骨と中足骨でも認められるのかどうかをたしかめた。

#### B-78 霊長類、視覚・味覚の GPCR 型受容体の構造・機能相関解析

神取秀樹, 片山耕大, 大橋知明, 野中祐貴 (名工大・院工) 所内対応者: 今井啓雄

ヒトを含む霊長類の網膜に存在する3種類(赤・緑・青)の色覚視物質は試料調製が困難なため、構造生物学的解析は過去に例がなく、我々の色認識メカニズムは謎のままであった。そのような現状で、我々は6年前より、培養細胞を用いて発現させた霊長類色覚視物質に対する赤外分光測定による構造解析を開始した。すでに赤・緑視物質においては、構造解析に成功しており(2報の論文を発表)、平成25年度は残された青視物質の構造解析に挑戦した。青視物質の試料調製は赤・緑視物質よりもさらに困難と考えられており、当初は構造解析に向けた実験条件の確立に2,3年程費やすことも覚悟していた。しかし発現量の増加を目的に取り組んだ霊長類の種の選択という新たな試みや、実験条件の最適化を進めることで、僅か1年足らずで分光測定に向けた青視物質の試料調製を実現することができただけでなく、昨年末にはすでに報告している赤・緑視物質と同程度の高精度なスペクトル測定を実現することができた。現在、出揃った3種類の色覚視物質の構造スペクトルを統合させた波長制御メカニズムの論文を作成する一方で、青視物質にのみ観測された特徴的な赤外振動バンドの帰属に向けて変異実験にも取り組んでいる。

また、苦味受容体の赤外分光解析に向けた実験を行う過程において、単離させたタンパク質のGタンパク質活性化機能の有無の問題が挙がっていた。そこで今年度は、放射性同位体標識試料を用いた活性化機能測定系の確立に取り組み、高感度の測定系を立ち上げることに成功した。これによりいずれのタンパク質単離過程において機能が失活しているのか評価できるだけでなく、分光測定から得られる構造と機能との相関性についての議論も可能となった。色覚視物質と同様、着実に構造基盤に立脚した苦味物質の受容メカニズムの解明に向けて研究が進展しており、今後も視覚・味覚の構造解析の成果を世界に発信できる点を踏まえ、支援いただいている霊長研に改めて謝意を表したい。

#### B-79 サル胎仔肺低形成の子宮内回復ー羊水過少による肺低形成モデル作成と成長因子解析

千葉敏雄, 山下良子, 柿本隆志, 山下紘正 (国立成育医療研究センター・臨床研究センター) 所内対応者: 鈴木樹里

H25年度は、サル胎仔肺低形成モデルの治療を想定し、妊娠サルの全身麻酔下にバルーンによる胎仔気管閉塞(胎仔内視鏡的)術を行なうため、これまでに行った実験で明らかになった課題を解決すべく、1)内視鏡の誘導のためのソフトウェアの改良と、2)バルーンの新たな解除技術につき、研究を進めた。1)では、子宮内のターゲットである胎仔の口を、三次元超音波画像の直交三断面から直観的に指定できるようにユーザインタフェースの改良を行った。また、内視鏡先端から見たターゲットまでの距離と方向を、術者がモニターを見て理解しやすいよう、表示方法を改良した。2)では、従来の気管を閉塞したバルーンを再度母体経腹的に挿入した内視鏡画像を確認しながら割るという手術が必要であったが、これを母体外から非観血的に集束超音波をバルーンに照射することで瞬間的に割って解除する、という新しい術式の開発を進めた。

なお今年度はソフトウェアおよび超音波装置の開発の進捗と、サルの妊娠週齢のタイミングがうまく合わず、妊娠サルを用いて行う実験の機会が得られなかった。今後は羊水中でも鮮明な内視鏡画像が得られる手法も取り入れ、より安全性の高い手術操作が行えるよう改良を加えていく。

#### B-80 サルの表情伝染に関する研究

川合伸幸 (名古屋大・院・情報科学) 所内対応者: 香田啓貴

他者がある行動をしたときに、それを観察しているヒトはつい同じような行動をする。これは「行動伝染」といわれ、ヒトでは頻繁に観察される。ヒト以外の動物でも、チンパンジーや、イヌは、同種あるいは異種(ヒトから)間で「あくび」が伝染するとの報告があるが、「あくび」以外の行動伝染が動物で見られるかは不明である。

「あくび」の伝染は、視覚的にはっきりと観察できるが、ヒト以外の動物で「あくび」以外の行動伝染が観察されないのは、潜在的に伝染する行動が顕在化していないだけなのかもしれない。

ヒトでは、「あくび」以外にも「表情」の伝染が知られているが、それらは行動として観察可能なほど顕著でない場合も多く、一般的に筋電で計測されている。ということは、これまでにサルも表情伝染の報告がなくとも筋電のレベルで表情が伝染している可能性が考えられる。そのことを検討するために、サルをモンキーチェアに固定し、さまざまな視聴覚刺激をサルに呈示し、行動分析を通じ表情伝染が生じるかを検討した。

その結果、サルも表情動画を見せたときにさまざまな行動が観察されたが、体動などの大きな筋電も重畳し、明確な結果は得られなかった。今後、独立成分分析(ICA)などを用い、体動のフィルターとして除去するなどの解析を行い、動画に対応した表情(の筋肉)が活動しているかを検討する。

### B-81 遺伝子ノックダウンマウスモデルの行動解析

渡我部昭哉, 高司雅史 (生理学研究所), 尾上浩隆, 横山ひろ (理化学研究所) 所内対応者: 中村克樹

私たちは、霊長類における遺伝子ノックダウン実験系の確立を目指している。この研究提案では、霊長類モデルとして新世界ザルであるコモンマウスモデルを用い、shRNA (short hairpin RNA) を搭載したアデノ随伴ウイルスベクター(AAV)を脳内に注入することで、遺伝子発現を抑制し、認知行動がどのような影響を受けるかを解析した。

コモンマウスモデルの AAV 注入は、理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター(CLS)で行い、PET 撮像によって目的遺伝子の発現抑制を確認した。理化学研究所における AAV 注入の前後に、霊長類研究所において認知実験を行い、遺伝子ノックダウンが認知行動に及ぼす影響を同一個体で比較した。認知実験には、中村教授の開発したタッチパネル方式の行動実験装置を用いた図形弁別課題及び、逆転学習課題を中心に行った。2013 年度の本研究課題において、計 4 頭の PET データと行動実験データを得ることができた。またこれらの個体については c-fos マッピングを行い、遺伝子発現抑制が脳活動に及ぼす影響についてより詳細なデータを集めることができた。これらのデータは論文として公表予定である。

### (3) 一般グループ研究

#### C-1 豪雪地帯のニホンザルによる洞窟利用のモニタリング

柏木健司, 横畑泰志 (富山大・大学院・理工学研究部) 所内対応者: 高井正成

富山県東部の黒部峡谷鍾乳洞地域において、豪雪を伴う厳冬期におけるニホンザルの洞窟利用について調査を行った。既にこれまでの調査で同地域のサル穴と呼ばれる鍾乳洞中に、厳冬期に排泄したと思われるサルの糞を観察している。本研究課題では、豪雪故に直接観察の困難な鍾乳洞地域において、自動センサーカメラを用いて厳冬期のニホンザルの洞窟利用の実態解明を目指して研究を進めている。

2013 年 8 月中旬から 12 月初旬にかけて、サル穴とホッタ洞と呼ばれる二つの鍾乳洞の洞口と洞内にカメラを設置し、洞窟環境における動作確認を進めた。その結果、洞口に設置したカメラにおいて、ニホンザルをはじめとしてハクビシンやげっ歯類などが洞窟内に侵入したことを確認した。さらに、11 月中旬の降雪を伴う急激な気温低下時に、ホッタ洞洞口付近の洞内で数頭のニホンザルによるサル団子が形成されていることを確認した。また、外来種のハクビシンの鍾乳洞地域への侵入を論文として報告した(柏木・矢野, 2014)。12 月初旬以降、サル穴洞口と洞内の計 2 箇所にカメラを設置しており、その結果は入山可能な 2014 年 4 月末以降に判明する。

柏木健司・矢野航, 2014(印刷中), 黒部峡谷鍾乳洞地域のハクビシン. 富山の生物, no. 53.

#### C-2 北限のサルにおける保全医学的研究

近江俊徳, 石井奈穂美, 羽山伸一, 名切幸枝 (日獣大・獣医), 浅川満彦 (酪農学園大), 中西せつ子 (NPO 法人どうぶつたちの病院) 所内対応者: 川本芳

世界最北限に生息する野生霊長類である青森県下北半島のニホンザル(北限のサル)は、1970 年に国の天然記念物に指定され、また 1991 年の環境省版レッドリストでは「保護に留意すべき地域個体群」として記載された貴重な生物である。その一方で、個体数の回復とともに農作物被害や人家侵入被害などが多発しており、現在個体数調整(青森県第 3 次特定鳥獣保護管理計画)のため捕殺が行われている。本研究では、行政と連携し北限のサルの個体群管理に役立つ保全医学的なデータを蓄積するため、2013 年 4 月～11 月の時点で 57 検体の標本を収集した。また、前年度までの検体も含めゲノム DNA より Y-STR 3 座位(n=55～67)の遺伝子型を解析し、既法の福島県のニホンザル(福島のサル)集団に比べ遺伝的多様性が低い座位や新規に見出されたアレルを保有する座位、遺伝子構成の地域間差異(傾向)が示された。31 例の血液性状の解析では、解析可能個体において、白血球数  $146.3 \times 10^2 / \mu\text{L} \pm 52.6 \times 10^2$  (若齢個体 n=11)、 $134.3 \times 10^2 / \mu\text{L} \pm 59.4 \times 10^2$  (成体 n=14)。赤血球数  $533.5 \times 10^4 / \mu\text{L} \pm 91.9 \times 10^4$  (若齢個体 n=11)、 $510.7 \times 10^4 / \mu\text{L} \pm 134.1 \times 10^4$  (成体 n=17)の結果を得た。今後、解析例数を増やしさらにデータを精査する予定である。

#### C-3 下北半島に生息するニホンザル (*Macaca fuscata*) の寄生虫症および感染症に関する疫学調査

浅川満彦, 萩原克郎, 村松康和, 岡本実, 渡辺洋子, 三賢慶 (酪農大・獣医) 所内対応者: 岡本宗裕